



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Facultad de Ciencias

Bioquímicas y Farmacéuticas

Trabajo Final para la obtención del título de
Especialista en Bioquímica Clínica: Hematología

Anemia

en la

Insuficiencia Renal

Presentado por Javier A. Nardelli

Directora: Dra Irma del Luján Acosta

Rosario - Argentina

2016

Anemia en la Insuficiencia Renal

Javier A. Nardelli

BIOQUÍMICO

Este Trabajo Final es presentado como parte de los requisitos para optar al grado académico de Especialista en Bioquímica Clínica: Hematología, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido presentado previamente para la obtención de otro título en esta u otra Universidad. El mismo fué realizado bajo la dirección de la Doctora Irma del Luján Acosta.

Javier A. Nardelli
Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

ÍNDICE

Capítulo I	
I.-Introducción	9
I.1.-El riñón	10
I.2.-Eritropoyetina	11
I.2.1.-Síntesis renal	11
I.2.2.-Síntesis extrarenal	14
I.2.3.-Niveles fisiológicos de eritropoyetina en plasma	15
I.2.4.-Estructura química de la eritropoyetina	15
I.2.5.-Receptor de la Eritropoyetina. Mecanismos de señalización y transducción	17
I.2.6.-Acción fisiológica de la eritropoyetina y la respuesta celular eritroide	19
I.3.-Respuesta celular a la hipoxia	22
I.3.1.-Factor inducible por la hipoxia	23
I.3.2.-Mecanismo regulador de HIF	25
I.3.3.-Rol del HIF en el stress por hipoxia tisular	29
I.3.4.-Manipulación farmacológica del sistema HIF	29
Capítulo II	
II.-Enfermedad renal crónica	32
II.1.-Insuficiencia renal crónica. Definición	33
II.2.-Etiopatogenia de la enfermedad renal crónica	33
Capítulo III	
III.-La anemia en la enfermedad renal crónica	36
III.1.-Etiopatogenia de la anemia en la ERC	37
III.1.1.-Disminución de la producción de Epo	37
III.1.1.1.-Déficit de Epo	37
III.1.1.2.-Inhibidores de Epo	38
III.1.1.3.-Fibrosis de la médula ósea	38
III.1.2.-Disminución de la vida media del glóbulo rojo	39
III.1.2.1.-Fragmentación mecánica de los hematíes	39
III.1.2.2.-Deshidratación o hiperhidratación de los hematíes	39
III.1.2.3.-Recalentamiento de los hematíes	39

III.1.2.4.-Toxicidad por exposición a sustancias oxidantes	40
III.1.2.5.-Toxicidad por aluminio	44
III.1.2.6.-Anemia hemolítica microangiopática	45
III.1.2.7.-Vasculitis	48
III.1.2.8.-Hipertensión maligna	50
III.1.2.9.-Hemólisis asociada a fármacos	53
III.1.2.10.-Hipofosfatemia	53
III.1.2.11.-Hiperfosfatemia	54
III.1.2.12.-Hiperesplenismo	54
III.1.2.13.-Hepatitis crónica	55
III.1.3.-Pérdida de masa eritrocitaria	56
III.1.3.1.-Iatrogénicas	56
III.1.3.2.-Gastrointestinales	56
III.1.3.3.-Genitourinarias	56
III.1.4.-Eritropoyesis disminuida secundaria a la retención de sustancias tóxicas urémicas	56
III.2.-Enfermedad renal crónica y génesis hemática	63
III.3.-Cuadro clínico del paciente renal	68
III.4.-Cuadro bioquímico del paciente renal	68
III.5.-Evaluación de la anemia en la enfermedad renal crónica	69
III.6.-Cuadro hematológico del paciente renal	70
III.7.-Diagnóstico diferencial	76
III.8.-Embarazo e IRC	76
 Capítulo IV	
IV.- Tratamiento	79
IV.1.-Objetivos del tratamiento	80
IV.2.1.-Modificación de hábitos dietarios	80
IV.2.2.-Suplementación con hierro	81
IV.2.3.-Transfusión sanguínea	83
IV.2.4.-Eritropoyetina	83
IV.2.4.1.-Complicaciones del tratamiento con Eporh	84
 Capítulo V	
V.-Conclusión	87
 Bibliografía	90

ABREVIATURAS

AINE: Antiinflamatorios no esteroides
AngII: Angiotensina II
Al: Aluminio
APCR: Aplasia pura de células rojas
ARD-1: Arrest defective 1
ARNT: Traslocador nuclear aril hidrocarburo
Bhlh: basic helix loop helix
BFU-E: Erythroid burst forming units
BMP: Bone morphogenic protein
CAD: Dominio de activación carboxilo terminal
CBFA 1: Core binding factor alpha 1
CBP: Creb binding protein
CHbr: Concentración de hemoglobina reticulocitaria
CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media
CFU-E: Unidad formadora de colonias eritroides
Crebh: cAMP response element binding protein H
CSF.GM: Factor estimulante de colonias granulomonocíticas
CSF.G: Factor estimulante de colonias granulocíticas
D: Daltons
DE: Desviación estandar
EPCs: Célula peritubular renal
Epo: Eritropoyetina
Eporh: Eritropoyetina recombinante humana
ESA: Agentes estimulantes de la eritropoyesis
ERBP: European Renal Best Practice
FG: Filtrado glomerular
GH: Hormona de crecimiento-Somatotrofina
Hb: Hemoglobina
HCM: Hemoglobina corpuscular media
HIF: Hipoxia Inducible Factor
HJV: Hemojuvelina
HM: Hipertensión Maligna
HRE: Hypoxia Responsive Elements
hsp90: heat shock protein 90
IL: Interleuquina
IRC: Insuficiencia renal crónica
IS: Sulfato de indoxilo
IST: Índice de saturación de la transferrina

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

IV: Intravenoso
FIH: Factor inhibidor de HIF
JAK: Janus kinase
KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcomes
NAD: Dominio de activación amino terminal
NKF/DOQI: National Kidney Foundation / Dialysis Outcomes Quality Initiative
NLS: Local de Señalización Nuclear
NOS: Óxido Nítrico Sintasa
MAT: Microangiopatía Trombótica
ODDD: Dominio de Degradación Oxígeno Dependiente
PAF: Factor Activador Plaquetario
PAS: Per Arnt Sim
PHD: Prolilhidroxilasa
PKC: Proteinkinasa C
PM: Peso Molecular
PO₂: Presión parcial de Oxígeno
PTH: Hormona Paratiroidea
ROS: Especies Reactivas del Oxígeno
SOMF: Sangre Oculta en Materia Fecal
STAT3: Signal Transducer and Activator of Transcription 3
TAD: Dominio de Transactivación
TNF: Factor de Necrosis Tumoral
TxA₂: Tromboxano A₂
P: Fósforo
PGs: Prostaglandinas
PKC: Protein kinasa C
PLA₂: Fosfolipasa A₂
PGI₂: Prostaciclina
Ps: Fosfatidilserina
RE: Retículo Endoplásmico
SC: Subcutánea
SNC: Sistema Nervioso Central
SRE: Sistema Reticuloendotelial
UPR: Unfolded Protein Response
VHL: von Hippel Lindau
VHB: Virus de Hepatitis B
VHC: Virus de Hepatitis C

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig 1: Estructura corticomedular renal con sus diferentes componentes	12
Fig 2: Células peritubulares productoras de Epo	13
Fig 3: Estructura glicoproteica de la Epo	16
Fig 4: Estructura molecular del receptor de Epo	18
Fig 5: Estructura terciaria de HIF	23
Fig 6: Productos codificados por el gen HIF1A	23
Fig 7: Dominios funcionales de HIF1 α	24
Fig 8: Subunidades HIF1 α y HIF1 β y sus dominios	25
Fig 9: Mecanismo regulador de HIF	25
Fig 10: Regulación de HIF según pO ₂	26
Fig 11: Regulación de HIF por FIH	27
Fig 12: Activación secuencial de NAD y CAD en un gradiente de hipoxia	28
Fig 13: Manipulación farmacológica del sistema HIF	30
Fig 14: Deterioro de la capacidad renal para secretar Epo	37
Fig 15: Esquema de las vías que conducen al proceso eritrotico	41
Fig 16: Actividad trombogénica del ác. lisofosfatídico en eritrocitos	47
Fig 17: Estructura de una micropartícula endotelial	50
Fig 18: Modulación fenotípica y calcificación de la matriz extracelular	51
Fig 19: Mecanismo de proteostasis en retículo endoplásmico en la enfermedad renal	60
Fig 20: Regulación del metabolismo férrico en IRC	62
Fig 21: Mecanismo de control de la hepcidina	63
Fig 22: Microscopía sanguínea de un paciente con IRC	70
Fig 23: Cambios morfológicos eritrocitarios en la uremia	71
Fig 24: Microscopía sanguínea de un paciente con IRC	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Estadios de la enfermedad renal crónica	35
Tabla 2: Toxinas urémicas pequeñas (< 500 D)	57
Tabla 3: Toxinas urémicas pequeñas ligadas a proteínas	58
Tabla 4: Toxinas urémicas medianas (> 500 D)	58

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

La insuficiencia renal crónica (IRC) es un síndrome con manifestaciones clínicas muy variadas que afecta a la mayor parte de órganos y sistemas, lo cual es un reflejo de la complejidad de las funciones que el riñón desempeña en condiciones fisiológicas, así como de las severas consecuencias que conlleva la disfunción renal.

La insuficiencia renal es un proceso que expresa la pérdida de capacidad funcional de las nefronas, con tendencia a empeorar y ser irreversible.

I.1 El riñón

El riñón tiene cuatro grandes funciones: depuradora, de regulación hidroelectrolítica y del equilibrio ácido base, también hormonales y metabólicas.

El riñón desempeña un importante rol en la regulación del medio interno. Los productos de deshecho del metabolismo son excretados por la orina. De la misma manera, gran parte de medicamentos se metabolizan por vía renal. La composición del organismo ha de mantenerse constante dentro de controlados márgenes en cuanto a volumen, osmolaridad, concentración iónica y acidez de los espacios extra e intracelular, para lo cual el riñón ajusta el balance diario entre los aportes y la eliminación por la orina de agua, Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} , Mg^{++} , PO_4^{---} , CO_3H^- y H^+ .

La orina, inicialmente, es un ultrafiltrado del líquido extracelular, elaborada en el glomérulo. Al día se producen más de 150 litros de orina primaria, de los que sólo se eliminan 1 o 2 litros como orina. El balance glomérulotubular asegura el mantenimiento del medio interno, por mecanismos de reabsorción y secreción tubular selectivos. Son conservados la mayor parte del agua y solutos filtrados, eliminándose por la orina una porción muy pequeña de composición adaptada a las necesidades. La glucosa y aminoácidos filtrados siguen patrones similares. En el transporte tubular intervienen proteínas transportadoras de membrana en los distintos segmentos del túbulo, específicas para los distintos solutos. La regulación del volumen extracelular y de la excreción de sodio depende de cuatro factores que se activan según los cambios de volumen: el sistema simpático, el sistema renina-angiotensina-aldosterona, el péptido natriurético atrial y la hormona antidiurética.

El riñón sintetiza hormonas como la eritropoyetina (Epo), la renina o las prostaglandinas (PGs). La Epo estimula la eritropoyesis como respuesta a la hipoxia. La renina es un enzima que activa el angiotensinógeno a

angiotensina I, la cual a su vez por acción de la enzima de conversión (ECA) cataliza el paso a angiotensina II con una potente acción vasoconstrictora. Además, la Ang II estimula la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal, reabsorbiendo Na^+ en el túbulo distal.

Las PGs se generan a partir del ácido araquidónico, dando lugar a prostanoides vasodilatadores como la prostaciclina (PGI_2) y la PGE_2 o vasoconstrictores como el tromboxano A_2 .

El riñón participa en el metabolismo y eliminación de algunas hormonas como la insulina, glucagón, cortisol, catecolaminas, somatotropina y prolactina. El riñón transforma la vitamina D inactiva ($25(\text{OH})\text{D}_3$) en su metabolito activo o calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) (21,29,35,55).

I.2 Eritropoyetina

La hormona Epo es el principal factor regulador de la producción de los glóbulos rojos. Esta hormona, químicamente una glicoproteína, es elaborada primariamente por el riñón aunque una pequeña fracción tiene un origen extrarenal, principalmente hepático, en el adulto.

La Epo fue el primer factor de crecimiento hematopoyético reconocido como tal. Su producción se relaciona estrechamente con la demanda y oferta de O_2 por los tejidos, promoviendo su biosíntesis y secreción.

La Epo interactúa sobre las células progenitoras eritroides de la médula ósea, a través de la unión con receptores específicos de membrana estimulando la proliferación y diferenciación celular. Actúa principalmente sobre los progenitores celulares terminales, de mayor maduración, de la línea celular eritropoyética.

Al contrario de otros factores de crecimiento, la Epo es altamente específica actuando casi exclusivamente sobre las células eritroides medulares.

I.2.1 Síntesis renal

Desde los trabajos originales de Jacobson y col., en 1957, se aceptó que el riñón es el órgano primario en la elaboración y secreción de Epo. En 1960, Zangheri y col., demostraron que extractos renales normales e hipóxicos, ejercen una clara acción eritropoyética. Experimentalmente fue demostrado que ratas con una nefrectomía bilateral son incapaces de incrementar eficientemente la producción de Epo, ante diversos estímulos hipóxicos. De la misma manera, pacientes con IRC desarrollan una anemia

de lenta evolución, pero progresiva y de grave pronóstico, a raíz de una inadecuada e insuficiente producción de Epo. Justamente, la administración de eritropoyetina recombinante humana, en dosis apropiadas a pacientes anémicos con IRC, corrige en gran medida la anemia, lo que constituye una clara evidencia de la etiología de la misma y del rol de los riñones en la producción primaria de Epo.

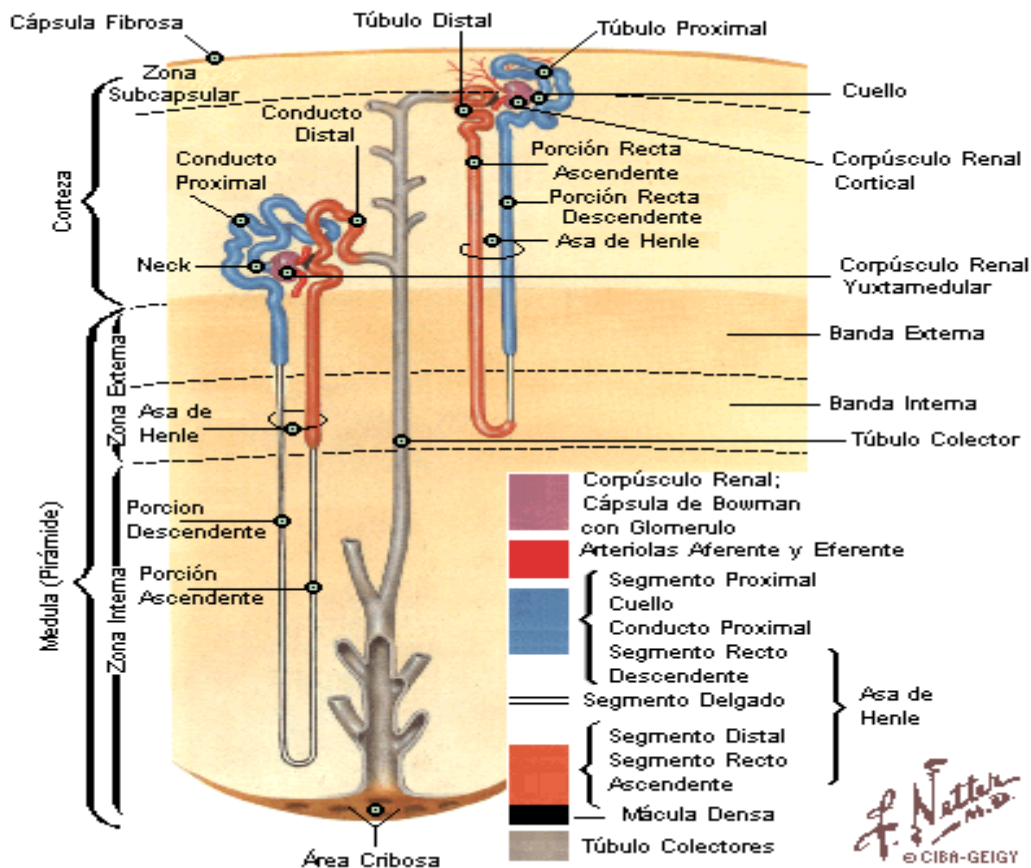


Figura 1: Estructura corticomedular renal con sus diferentes componentes: glomérulo y túbulos

M.Koury et al. (2015) Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy. Nature Reviews. Nephrology

Las células productoras de Epo en el riñón son las células intersticiales peritubulares. Están localizadas por fuera de la membrana basal de los túbulos renales, específicamente en la corteza renal y la parte más externa de la médula renal. (Ver Fig. 1). Se relacionan con capilares sanguíneos y probablemente sean células de tipo fibroblastos, no endoteliales (9)(Ver Fig. 2).

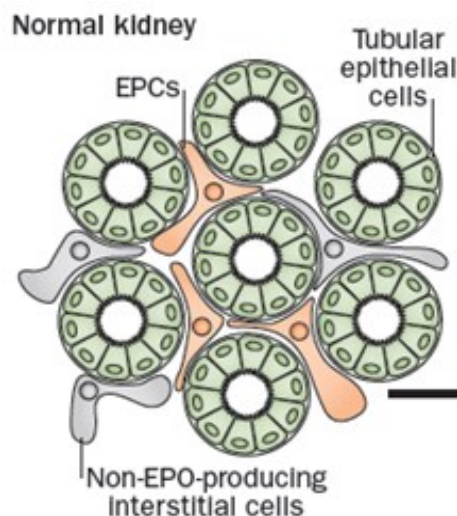


Figura 2: Células peritubulares renales productoras de Epo
 M.Koury et al. (2015) Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy.
 Nature Reviews. Nephrology

En las células intersticiales peritubulares de las regiones renales mencionadas, se demostró la presencia de RNAm de Epo tanto en condiciones basales normales, como en cantidades mayores después del estímulo hipóxico. En numerosos estudios con modelos experimentales, se observó que la Epo renal y plasmática, y el RNAm de Epo nuclear en las células peritubulares, se incrementan marcada y rápidamente, en forma proporcional al estímulo anémico hipóxico aplicado. Ello indica que la mayor parte de la Epo circulante es de novosíntesis. Cuando la hipoxia se suprime, el RNAm de Epo disminuye rápidamente, llegando a ser indetectable en 3 horas aproximadamente, indicando que su vida media es relativamente corta. Se ha estimado que el 20-30 % de las células intersticiales peritubulares de la corteza renal y de la médula adyacente, son productoras de Epo. Serían células especializadas para la biosíntesis de Epo, que se agrupan principalmente en las adyacencias de los túbulos contorneados proximales. El estímulo hipóxico sería detectado o percibido por un mecanismo sensor de O_2 presente en dichas células.

La presencia de anemia puede desencadenar una vasoconstricción de las arteriolas proximales, como también, un mayor consumo de O_2 por las células del túbulo proximal, que ocasiona un estado de hipoxia distal. Cuando la hipoxia alcanza cierto nivel umbral en las células peritubulares se induce la transcripción del gen de Epo y se promueve la producción de

la hormona. En condiciones normales, solamente un pequeño número de células activan la síntesis de Epo, suficientes para mantener la eritropoyesis fisiológica.

En caso que la hipoxia o la anemia se incrementen, un número progresivamente mayor de células peritubulares se incorporan a la producción de Epo, de tal manera que una pequeña reducción del hematocrito determina una respuesta proporcional en la elaboración de la hormona.

A los estudios que involucran a las células intersticiales peritubulares como sitios de síntesis de Epo, se ha agregado otro que sugiere a otras células renales como posibles sitios de elaboración de Epo: células glomerulares epiteliales, células tubulares, células mesangiales en los glomérulos y otras.

Algunos investigadores postulan finalmente que podría existir más de un tipo celular renal para la elaboración de la EPO, involucrando a varias de las células mencionadas (3,61).

1.2.2 Síntesis extrarrenal

Se ha demostrado repetidamente en pacientes anéfricos y en varios animales de experimentación con nefrectomía bilateral total, que aún en esas circunstancias persiste una capacidad productora de EPO, que se calcula en un 10-15 % de la producción normal. En el hombre, esta pequeña cantidad residual de Epo no alcanza para mantener una eritropoyesis normal, pero demuestra la existencia de sitios extrarrenales de elaboración de la hormona. El hígado es el órgano principal en la producción extrarrenal de Epo. Debe considerarse que el hígado es el órgano elaborador de Epo durante la vida fetal y muy posiblemente conserva un remanente de esa actividad en la vida adulta, que sólo se pone de manifiesto ante la falta de producción renal de Epo como también por intensos estímulos, por ejemplo una hipoxia moderada o severa (9).

Las células responsables de la producción hepática de Epo no fueron aún claramente determinadas habiéndose incriminado, principalmente a los hepatocitos, (específicamente a los hepatocitos que rodean la vena hepática) y también a las células de Kupffer.

Los macrófagos que colonizan el hígado fetal, formando “unidades eritropoyéticas funcionales”, que consisten en un macrófago rodeado de eritroblastos en desarrollo, han sido también postulados como células productoras de Epo. Estos macrófagos expresan el gen de Epo y es posible

que en la vida adulta actúen en la médula ósea, en contacto con progenitores eritroides, generando una elaboración local de la hormona o producción parácrina de Epo, que puede desempeñar un rol importante en la regulación de la eritropoyesis. En condiciones normales ha sido estimado que el 0.2 % de los macrófagos de la médula ósea pueden expresar el gen de la Epo. Se ha postulado que producen una secreción basal de la hormona y que la misma puede incrementarse hasta 5 veces por un severo estímulo hipóxico. Sólo entonces y si el stress eritropoyético no ha desaparecido, comenzaría a operar el riñón incrementando a su vez la secreción de Epo (9).

Otras células en las que se ha detectado ARNm de Epo son neuronas, células de la glía, tejido pulmonar, cardiomiocitos, células del bazo, folículos del cabello, osteoblastos y células genitourinarias masculinas y femeninas (9).

I.2.3 Niveles fisiológicos de eritropoyetina en plasma

En condiciones fisiológicas, en un paciente adulto normal, la concentración de Epo en plasma es de 3-16 mU/ml (método ELISA) (4). Estas pequeñas cantidades son las necesarias para estimular la producción diaria de glóbulos rojos, que reemplazan fisiológicamente a los que constantemente desaparecen. En casos de anemia, la secreción de Epo aumenta marcadamente. La hipoxia producida por una reducción del hematocrito al 20 % (normal 40-45 %), incrementa la concentración plasmática de Epo en 100 veces, aproximadamente.

I.2.4 Estructura química de la eritropoyetina

La hormona Epo es una glicoproteína de 165 aminoácidos. Numerosos estudios demostraron variaciones en la estimación de su PM de 36.000 a 39.000 Daltons. La Epo urinaria humana purificada posee una actividad específica de 74.000 U/mg de proteína y su PM es de 34.000 daltons (4,6).

El contenido de carbohidratos de la molécula de Epo es del 35 % en la Epo urinaria y del 39 % en la Epo que se halla en circulación. Se ha sugerido que una parte de la bioactividad de la molécula de Epo urinaria se altera o inactiva en los procesos de extracción, recolección y purificación. Los carbohidratos de la glicoproteína son principalmente ácido siálico (11%), hexosas, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina y ácido N-acetilneuramínico. (Ver fig. 3)

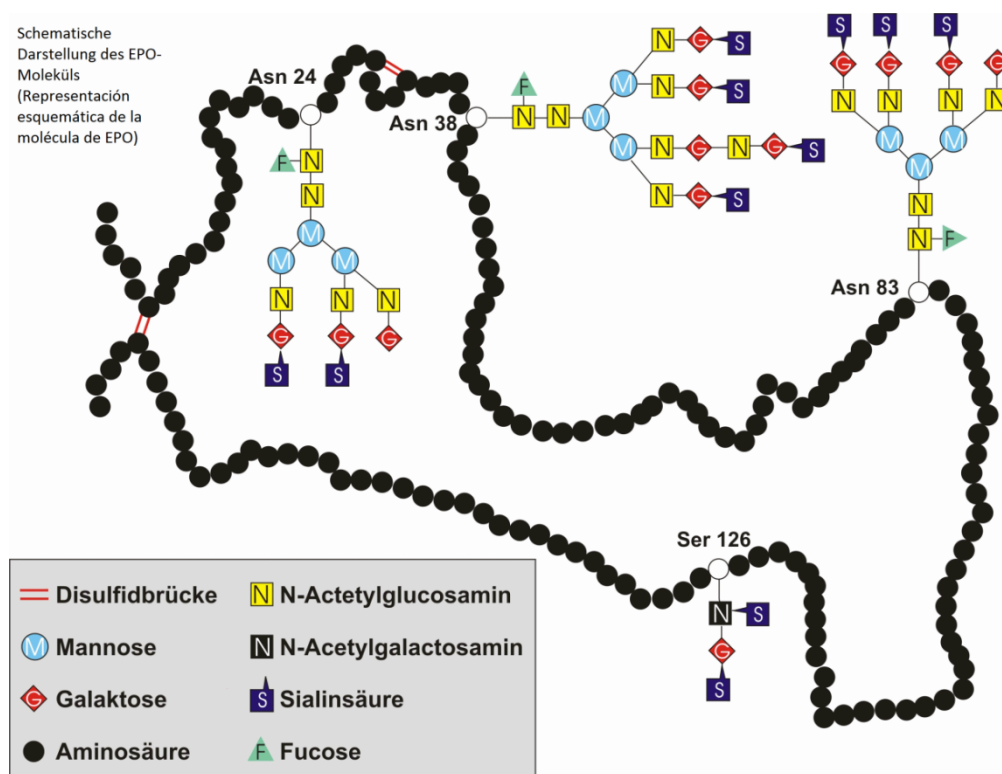


Figura 3: Estructura glicoproteica de la Eritropoyetina
Schematische Darstellung des Epo moleküls. Raymond Vanholder.
Nephrology Section ASN DIALYSIS ADVISORY GROUP.
Ghent, Belgium

La estructura y composición de los carbohidratos de la molécula de Epo son importantes para el mantenimiento de la hormona en circulación. El ácido siálico es necesario para el mantenimiento de la actividad biológica “in vivo”. La remoción química o enzimática del ácido siálico, desialación, expone un residuo galactosílico en la molécula que puede entonces ligarse rápidamente a receptores de galactosa en los hepatocitos, lo que determina su metabolización casi inmediata en hígado. Por eso, la Epo desialada es eliminada del plasma a un ritmo 20 veces mayor que la hormona inalterada, “in vivo” y se acumula en hígado. La desialación de la molécula de Epo no interfiere sin embargo, con su actividad “in vitro”. En los cultivos celulares de progenitores eritroides, la actividad eritropoyética específica de la hormona se mantiene y el estímulo para la producción de colonias eritroides es similar al que produce la Epo inalterada. La glicosilación de la Epo parece ser también necesaria para el transporte plasmático de la hormona y para el pasaje de la misma desde la sangre a la médula ósea a través de las células endoteliales de la barrera sangre-médula ósea.

La Epo humana es sintetizada con 166 aminoácidos pero la molécula activa posee sólo 165 aminoácidos. Una arginina carboxilada terminal se pierde, posiblemente por acción de una carboxipeptidasa intracelular.

La molécula de Epo humana posee 4 cisteínas ligadas por puentes internos de disulfuro entre las cisteínas 29-33 y 7-161, cuya conservación es necesaria para el mantenimiento de la actividad biológica. En tal sentido, la alquilación de los grupos sulfhidrilos produce una pérdida irreversible de la actividad eritropoyética. Lo mismo ocurre con una extensa iodinación o luego de la sustitución de aminoácidos de la cadena glicoproteica.

En condiciones normales, el O_2 es transportado por la hemoglobina contenida en los hematíes, hasta la intimidad de los tejidos, donde difunde hacia las células. La producción de Epo y por ende el mantenimiento de una eritropoyesis normal depende de la PO_2 a ese nivel. La PO_2 en los capilares es normalmente de 30 a 45 mm de Hg. A medida que el O_2 difunde, la PO_2 disminuye. Debido a este gradiente de O_2 , en la médula ósea, la PO_2 es posiblemente de 25 a 35 mm de Hg, que corresponde a una concentración de 3,5 % de O_2 . Esta es la concentración que fue encontrada como la óptima para el desarrollo de las colonias eritroides CFU-E y BFU-E, en los cultivos. Con dicha concentración de O_2 el número de colonias CFU-E fue incrementado significativamente con cantidades de Epo tan pequeñas como 0.023 mU/ ml.

I.2.5 Receptor de la Eritropoyetina. Mecanismos de señalización y transducción.

La Epo interacciona en las células eritroides con un receptor de membrana, específico y saturable. Forma parte de una superfamilia de receptores para citoquinas, de la que participan los receptores para IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, CSF-GM, CSF-G, GH, Prolactina, y otros.

El receptor de Epo es un polipéptido de 507 aminoácidos que posee 3 dominios: un dominio extracelular de unión a la Epo que tiene 223 aminoácidos; un dominio transmembrana de 24 aminoácidos y un dominio citoplasmático de 236 aminoácidos. Como otros miembros de la superfamilia de receptores para citoquinas, poseen 4 cisteínas (6). (Ver Fig. 4).

El receptor de Epo posee además un quinto residuo de cisteína, del que carecen los otros miembros de la superfamilia. La cola citoplasmática del

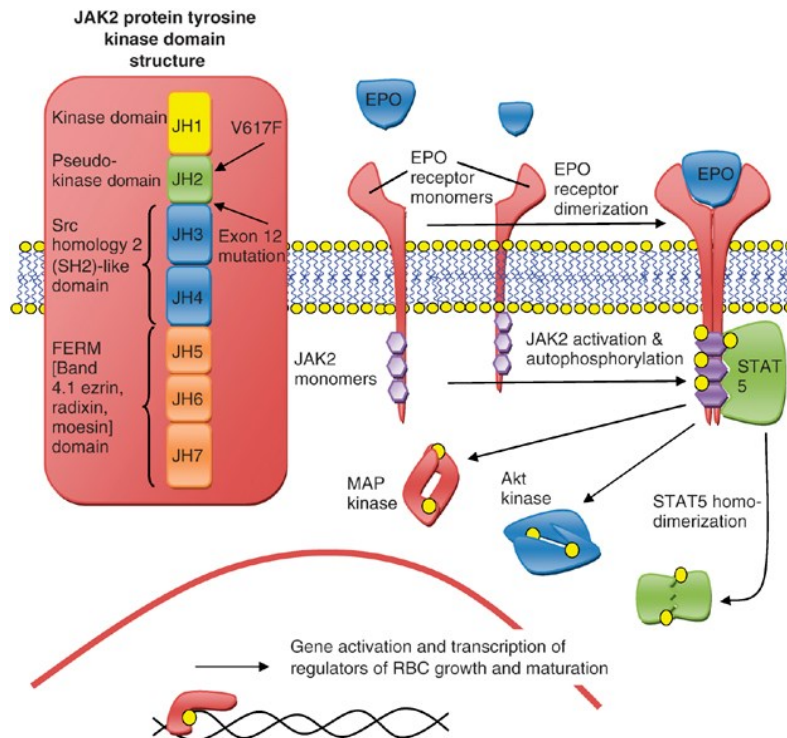


Figura 4: Estructura molecular del receptor de Epo
K. Kaushansky et al. WILLIAMS HEMATOLOGY 8° Edition

receptor de Epo posee 2 regiones de funciones opuestas. Una región próxima a la membrana de 103 aminoácidos, que transduce las señales proliferativas, y una región carboxi-terminal de 40 aminoácidos, que las inhibe o regula en descenso.

El gen responsable de la síntesis del receptor de Epo ha sido identificado y clonado, lo que ha facilitado el conocimiento de su estructura y funciones. Posee 8 exones, 5 de los cuales codifica la región extracitoplasmática, 1 la región transmembrana y los 2 restantes la región citoplasmática. El PM del receptor de Epo ha sido estimado en 66.000 daltons (63). En los cultivos, las células eritroides expresan de 300 a 1000 sitios de unión por célula, 20% de los cuales son receptores de alta afinidad y 80% de baja afinidad. En la evolución de la serie eritroide, los sitios de alta afinidad alcanzan su máxima expresión a nivel de los CFU-E. La Epo regula sus receptores desencadenando mecanismos de regulación en descenso ("down regulation") o de regulación en ascenso ("up regulation"), de acuerdo con el número de moléculas de Epo presentes en el medio extracelular. La vida media de los receptores fue estimada en 1 a 4 horas. En los cultivos, la unión de la Epo a sus receptores se facilita por la desialación de la molécula, o por la presencia de neuraminidasa o de

agentes reductores, lo que sugiere que ni el ácido siálico ni los residuos sulfidrílicos son necesarios para la unión.

Ha sido postulado un modelo que incluye la formación de un complejo Epo-receptor y transducción de señales, mediante el cual una molécula de Epo, se une en el dominio extracelular a dos moléculas de receptor, formando un dímero. Como consecuencia, se generan interacciones proteína-proteína en el dominio transmembrana y reacciones que involucran a proteinkinasa en la región citoplasmática del receptor. Ello produce la fosforilación de ambos receptores y de sustratos adicionales, principalmente tirosin-fosforilaciones en varias proteínas celulares que fueron identificadas.

La Epo también induce la actividad de una proteinkinasa C nuclear, en los progenitores eritroides.

La fosforilación del receptor de Epo, que a su vez induce otras fosforilaciones de proteínas de membrana y citoplasmáticas, es el mecanismo inicial de los eventos bioquímicos desencadenados por la hormona. Sin embargo, la secuencia de otros mecanismos que finalmente determinan la proliferación y diferenciación de los progenitores eritroides, está aún lejos de ser bien conocido (44,64). Se puede hipotetizar afirmando que la Epo, por sus efectos estimulantes de proliferación celular, debería inducir genes cuyos productos proteicos activen la replicación del DNA, la división celular, el crecimiento y mantenimiento de las células rojas. Además, como la hormona es también un agente de diferenciación debería inducir genes específicos de la línea eritroide como los que determinan la síntesis de la hemoglobina y la glicoforina A.

Otros segundos mensajeros han sido también involucrados en el mecanismo de acción de la Epo. El AMPc y el GMPc probablemente jueguen un rol modulador en la señalización producida luego de la activación del receptor de Epo. El AMPc intracelular se incrementa posiblemente vía adenilciclase. También se activaría la fosfolipasa A₂ y la C con la producción de diacilglicerol y ácido araquidónico y la subsecuente formación de metabolitos del araquidonato, vía lipoxigenasa. Otro efecto descrito es el rápido influjo del Ca⁺⁺ al medio intracelular luego de la interacción Epo-receptor.

1.2.6 Acción fisiológica de la eritropoyetina y la respuesta celular eritroide

El aumento consecutivo de la secreción de Epo, resulta en una síntesis de productos proteicos que inducen:

Proliferación eritroide: Consiste fundamentalmente en un estímulo a mitosis celulares. Para ello, la Epo parece actuar sobre una población de células que están en un estado latente, es decir en la fase G₀ del ciclo celular. El efecto proliferativo básico de la Epo sería promover la incorporación de dichas células al ciclo celular. Para ello, la hormona debería actuar sobre progenitores más precoces que los CFU-E, ya que estos están, casi todos, en ciclo celular activo. Su efecto sería, entonces, promotor inicial de las mitosis (posiblemente BFU-E tempranos o inmaduros) y el mantenimiento del estímulo proliferativo posterior sobre los CFU-E.

Diferenciación eritroide: La Epo y posiblemente otros factores, actuando en etapas más tempranas, al mismo tiempo que estimula la proliferación celular, inducen en los progenitores un programa de diferenciación hacia la línea eritroide. El mismo consiste en la incorporación o síntesis progresiva de elementos específicos de la línea celular, como espectrinas eritroides, globinas, la hemoglobina y el mismo receptor de Epo, las que se realizan en diferentes etapas de la diferenciación. Posiblemente participen también en el proceso algunos factores de transcripción asociados. En el proceso de diferenciación también es necesaria la presencia de nutrientes específicos como el ácido fólico, la vitamina B₁₂, el hierro y posiblemente algunos otros factores de proliferación como IGF-1 y el Stem Cell Factor (9).

Mantenimiento y viabilidad celular eritroide: la Epo es también necesaria para el mantenimiento y buen estado funcional de los glóbulos rojos. Los progenitores BFU-E tardíos, que ya expresan receptores para Epo, los CFU-E, proeritroblastos y eritroblastos basófilos son absolutamente dependientes de Epo para su supervivencia. Los normoblastos policromáticos, ortocromáticos y reticulocitos, aunque continúan con su diferenciación y maduración, pierden progresivamente los receptores y se compromete su supervivencia. A medida que los progenitores pierden la dependencia a Epo se induce progresivamente la muerte celular programada o apoptosis. Esto demuestra que la Epo es una hormona trófica para la línea celular eritroide (9).

Apoptosis: Consiste en un proceso de muerte celular programada en el compartimiento eritroide. Los progenitores eritroides son dependientes de Epo para su supervivencia. En ausencia de Epo, o a medida que desaparecen los receptores, las células se deterioran, disminuye el tamaño celular, la cromatina nuclear se condensa homogéneamente, la envoltura nuclear se fragmenta, cesa la síntesis de hemoglobina y la célula

muere. Por el contrario, en presencia de Epo, los progenitores continúan su diferenciación, la síntesis de hemoglobina, desarrollan la enucleación y se convierten en reticulocitos y glóbulos rojos funcionales.

Apoptosis y diferenciación parecen formar parte de un mismo proceso para mantener la eritropoyesis dentro de los límites normales.

La célula progenitora eritroide está destinada a seguir estos 2 caminos, o se diferencia hacia células eritroides maduras o sufre el proceso de apoptosis. Los progenitores eritroides necesitan de ciertos niveles de Epo para evitar la apoptosis y a su vez la producción de Epo depende del estado de oxigenación de la corteza renal a nivel de las células intersticiales peritubulares.

Para mantener el delicado control de la eritropoyesis, se ha postulado que podría existir una heterogeneidad de los progenitores eritroides, sobre todo en los CFU-E. La heterogeneidad se refiere a diferencias en la sensibilidad de las células a la Epo. Se ha demostrado que algunos progenitores CFU-E sólo necesitan la presencia de 25 mU de Epo para desarrollar colonias. En cambio otros CFU-E requieren de 1000 mU o más para formar colonias. Ambos poseen la misma capacidad potencial de diferenciación, pero requieren cantidades muy diferentes de Epo para desarrollar ese potencial. El mecanismo de las diferencias de sensibilidad no es bien conocido.

Pueden existir diferencias en el número total de receptores por célula o en la presencia o no de receptores de alta afinidad. El número de receptores podría descartarse, ya que la activación de un número pequeño de receptores es capaz de generar una respuesta máxima. La presencia de receptores de alta afinidad sería entonces responsable de las diferencias de sensibilidad a la Epo. La existencia de receptores de alta o baja afinidad puede ser determinada por otros factores de crecimiento. Se ha mencionado que la IL3 podría inducir en las células eritroides señales de transducción que generan receptores de alta afinidad. La sensibilidad de los receptores puede también estar en relación con el dominio carboxi-terminal citoplasmático del receptor que induce una regulación negativa en la respuesta eritroide, dependiendo de la fosforilación del dominio.

En resumen, la eritropoyesis normal es un proceso en el que millones de glóbulos rojos se producen diariamente en reemplazo de los que desaparecen. La respuesta eritroide a los requerimientos de glóbulos rojos depende de la secreción de Epo y de los progenitores CFU-E, principalmente. De acuerdo a las demandas, estos progenitores inician el camino hacia la diferenciación, o van hacia la apoptosis. En casos de

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

anemia o hipoxia, aumenta la secreción de Epo, aumenta el número de CFU-E en la médula ósea y su sensibilidad a la hormona (posiblemente por un aumento de la densidad de receptores de alta afinidad). Como consecuencia, un número mayoritario de progenitores van hacia la diferenciación eritroide. Si hay hiperoxia, o en casos de hipertransfusión por ejemplo, disminuye la secreción de Epo, disminuye el número de CFU-E y su sensibilidad a Epo, y un número mayoritario de los mismos van hacia la apoptosis (9).

I.3 Respuesta celular a la hipoxia

Un cuadro hipóxico puede ocurrir por los siguientes mecanismos, y a través de cualquiera de ellos puede incrementarse la secreción renal de Epo:

- .. Reducción de la presión parcial de O₂ ambiental (elevada altitud, hipobaría).
- .. Disminución de la capacidad de transporte de O₂ en la sangre (concentración de Hb: anemia; grado de afinidad o saturación de la Hb).
- .. Disminución del pasaje de O₂ a través de los alvéolos pulmonares (enfermedad pulmonar obstructiva).
- .. Disminución del flujo sanguíneo renal (vasoconstricción arteriolar renal, ateromas, trombosis, etc).
- .. Disminución de la utilización del O₂ por los riñones (cobalto).

Si el aporte de oxígeno al riñón disminuye, el incremento de la síntesis de RNAm de Epo en las células productoras de la hormona ocurre paralelamente, de 50 a 100 veces más, pudiendo alcanzar las concentraciones circulantes de EPO hasta 1000 veces (38). Se trata de una respuesta de fuerte amplitud que implica una intensificación de la transcripción de los genes. En dicho mecanismo, intervienen varias moléculas reguladoras, entre otras el HIF (hipoxia inducible factor).

El factor inducible por hipoxia es un factor de transcripción que regula la respuesta celular a la hipoxia y actúa como regulador de la homeostasis del oxígeno. El factor de transcripción activa genes que codifican proteínas que aumentan la disponibilidad del oxígeno y permiten la adaptación metabólica en escasez de oxígeno, controlando la expresión de decenas de productos de genes y proteínas implicados en la eritropoyesis, la glucólisis, el tono vascular, la regulación del pH, la homeostasis epitelial, la angiogénesis, apoptosis y la resistencia a los fármacos. Se identificaron más de 60 genes diana inducidos por HIF, mientras que otros son suprimidos. Muchas funciones son dependientes del HIF (43).

I.3.1 Factor Inducible por la Hipoxia

El gen *HIF1A*, que codifica al factor inducible por la hipoxia HIF-1 α , se localiza en el *locus* 14q21-q249, que contiene 15 exones. El HIF fue aislado por primera vez en 1993 y sus componentes proteicos, identificados en 1995.

El complejo HIF es un heterodímero compuesto por una cadena reguladora alfa (regulada por el O₂) y otra constitutiva beta, dispuestas en doble hélice (43). (Ver Fig. 5)

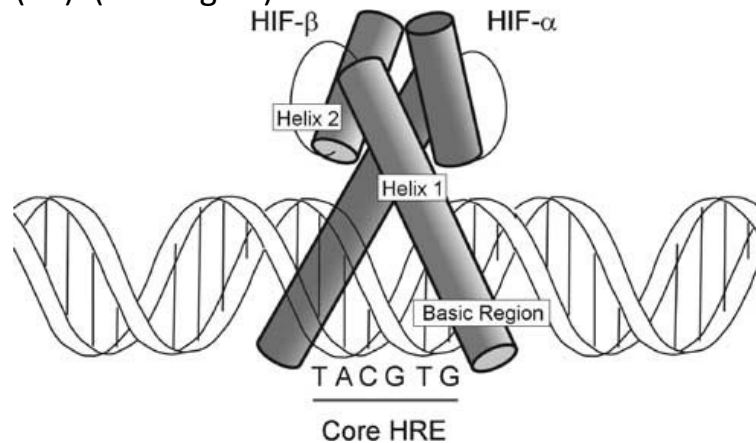


Figura 5: Estructura terciaria de HIF

K. Lisy et al. (2008) Turn me on: regulating HIF transcriptional activity. Cell Death and Differentiation

Tres productos distintos del gen *HIF1A*, que codifica la subunidad HIF α , han sido identificados en los mamíferos: HIF-1 α , HIF-2 α (también llamado EPAS1) y HIF-3 α (uno de cuyos transcritos ha sido llamado IPAS, por inhibitory PAS protein (proteína inhibidora a dominio PAS). El HIF-3 α , del cual existen un par de variantes, puede tener una actividad inhibidora sobre la respuesta de HIF (38). (Ver Fig. 6)

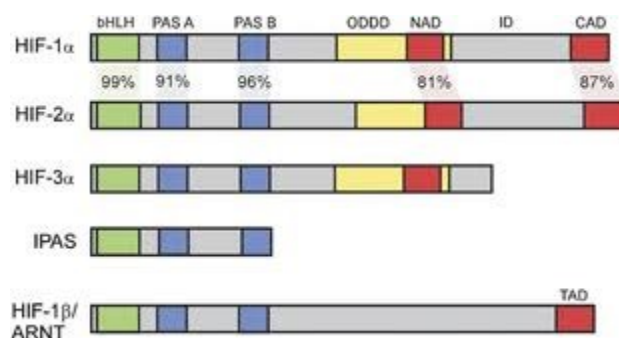


Figura 6: Productos codificados por el gen *HIF1A*

G. Masoud et al. (2015) HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. Acta Pharmaceutica Sinica B. ELSEVIER

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

La subunidad beta (HIF-1 β), es también llamada translocador nuclear aril hidrocarburos (Arnt)(43) del cual existen tres isoformas: Arnt1, Arnt2, Arnt3 (45).

HIF α , en condiciones de normoxia, tiene una vida media bastante corta, de solo 5 minutos (45). En el citoplasma, está fijada a una proteína hsp90 (heat shock protein 90). Esta asociación le da estabilidad a la subunidad.

En condiciones de hipoxia, hay un aumento de la vida media de HIF α , provocando su acumulación y migración al núcleo, donde genera una forma heterodimerizada con la subunidad beta (HIF-1 β). Este heterodímero se unirá, junto a coactivadores, a las secuencias específicas del ADN, activando más de 70 genes implicados en la adaptación a la hipoxia.

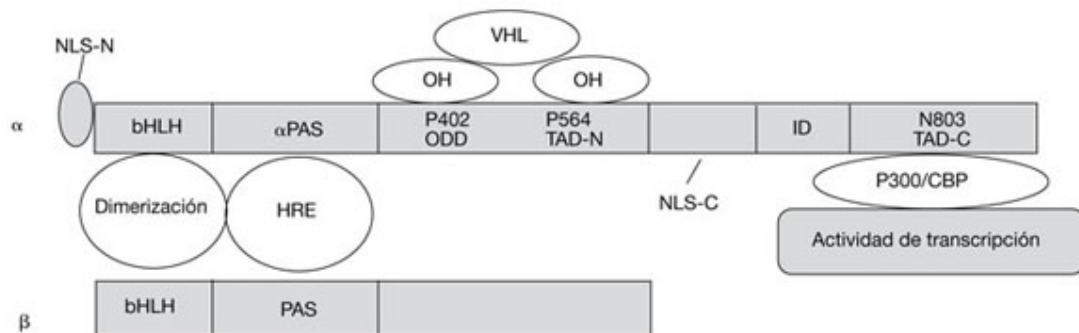


Figura 7: Dominios funcionales de HIF1 α

A. Fraga et al. (2009) Hipoxia tumoral. Papel del factor inducible por hipoxia. Actas Urológicas Españolas. Elsevier Doyma

La parte N-terminal de la molécula HIF α (aminoácidos 1-390) contiene además del dominio bHLH (basic helix loop helix), un dominio PAS (Per Arnt Sim)(38), que son necesarios para la dimerización y ligación al ADN respectivamente. Las interacciones entre los dominios bHLH de ambas subunidades regulan su dimerización. El dominio C-terminal tiene como función señalar la translocación del HIF-1 α hacia el núcleo, la estabilización proteica y la interacción con el coactivador p300. (Ver Fig.7)

Una vez ensamblado el heterodímero HIF a HRE, debe reclutar coactivadores transcripcionales para formar un complejo de iniciación. Esto es mediado por los dominios de transactivación presentes en el HIF. El HIF contiene 2 dominios de transactivación TAD (N-TAD y C-TAD) en el C-terminal (aminoácidos 531-575 y 786-826), que están separados por una secuencia de aminoácidos (575-786) que inhibe la transactivación (43). N-TAD y C-TAD reclutan los coactivadores CBP/P300, SRC-1 y TIF-2

(transcription intermediary factor 2), como también estabilizan a HIF de la degradación (8). (Ver Fig. 8)

CBP/P300 tienen actividad acetiltransferasa sobre las histonas, actividad previa a la transcripción.

En el gen HIF1A hay 2 locales de señalización nuclear (NLS), situados en el C-terminal (aminoácidos 718-721) y en el N-terminal (aminoácidos 17-33), pero sólo el que se encuentra en el C-terminal es el responsable por la acumulación nuclear del HIF-1 α (38).

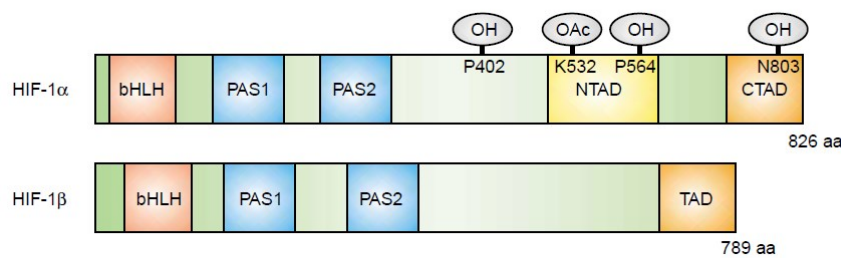


Figura 8: Subunidades HIF1 α y HIF1 β y sus dominios
Data Base-Cambridge University Press

I.3.2 Mecanismo regulador de HIF

En condiciones de normoxia, el O₂ ejerce un mecanismo contralor sobre HIF-1 α , a través de una hidroxilación enzimática.

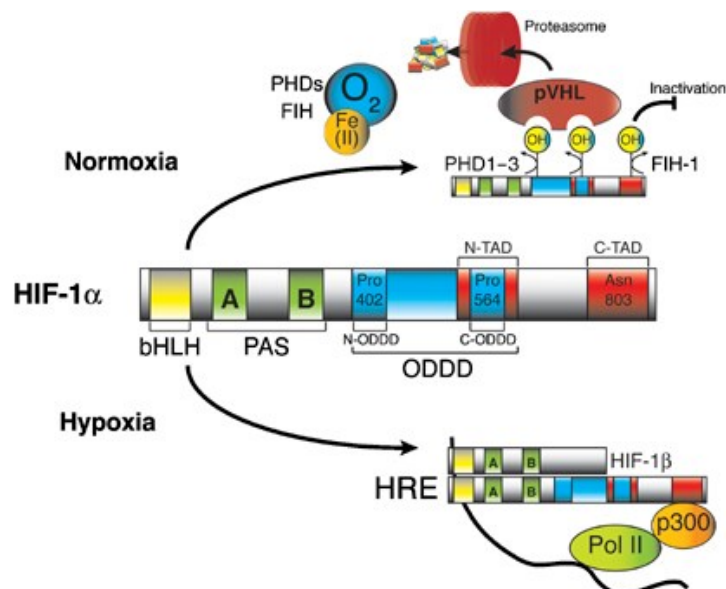


Figura 9: Mecanismo regulador de HIF

G.Rishi et al. (2015) Heparidin: regulation of the master iron regulator Bioscience Reports

Los dominios de hidroxilación de una enzima denominada HIF1 α -prolilhidroxilasa (PHD1, 2, 3) provocan la hidroxilación específica en dos residuos de prolina (Pro402 y Pro564 en HIF1 α , Pro405 y Pro531 en HIF2 α) en la región ODDD (dominio de degradación oxígeno dependiente) del HIF-1 α . (Ver Fig. 9 y Fig. 10)

Estas enzimas, las HIF α -prolilhidroxilasas, pertenecen a una familia heterogénea de enzimas que contienen hierro en su sitio activo y utilizan oxígeno molecular y 2-oxoglutarato (38,9).

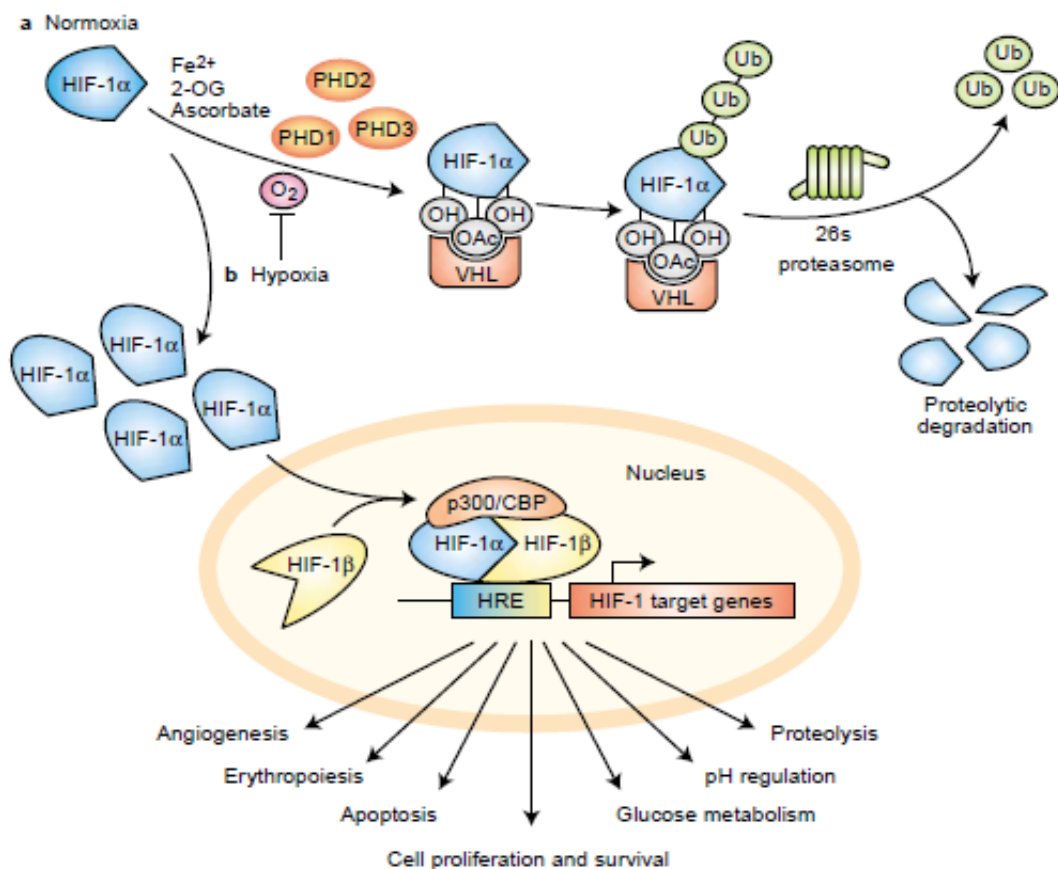


Figura 10: Regulación de HIF según PO_2
Data Base-Cambridge University Press

Una vez hidroxilado, los residuos 4-hidroxiprolina se alojan en un "bolsillo" en la superficie del oncosupresor VHL (von Hippel-Lindau), que opera como el elemento de reconocimiento del complejo ubiquitina ligasa E3. Esta unión lleva a la activación de la vía de degradación de la

ubiquitina (ubiquitinilación) y a la destrucción final de HIF (38). La hidroxilación de los residuos de prolina en el ODDD del HIF-1 α representa el punto crítico que regula la estabilidad de la proteína. La actividad de la transcripción de genes HIF1A se encuentra, de este modo, regulada por la tensión de oxígeno celular (43).

La estabilidad de HIF α es regulada por las prolihidroxilasas, como así también por acción de FIH1 (Factor inhibidor de HIF). Éste produce la hidroxilación de un residuo asparaginil (Asn803) de la región CTAD de HIF, inhibiendo su actividad. (Ver Fig. 11)

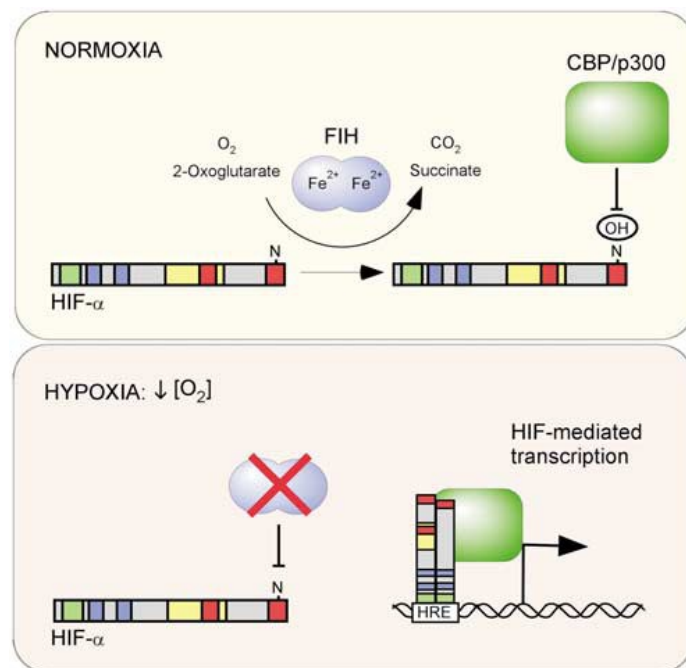


Figura 11: Regulación de HIF por FIH

K. Lisy et al.(2008) Turn me on: regulating HIF transcriptional activity.
Cell Death and Differentiation.

La hidroxilación del residuo de asparagina por FIH1 es suficiente para inhibir la interacción de CTAD con el complejo CBP/p300, silenciando la actividad transcripcional.

En condiciones de hipoxia, el FIH1 permanece inactivo, lo cual permite al HIF interactuar con los coactivadores CBP/P300.

Un tercer regulador de HIF α en condiciones de normoxia lo constituye ARD-1 (Arrest Defective 1), una acetiltransferasa que actúa sobre el residuo lisina 532 de la región ODDD. Esto transformaría a HIF1 α en blanco de la proteína VHL. La actividad de ARD-1 decrece en condiciones de hipoxia (8).

En adición al rol mayor de las hidrolasas en la regulación de la actividad de HIF α , existe una vía que involucra activación oncogénica. En

condiciones no hipóxicas, factores de crecimiento, citoquinas, oncogenes (RAS/RAF/MEK/ERK) y otras moléculas de señalización llevan a la acumulación de HIF α en la célula (8).

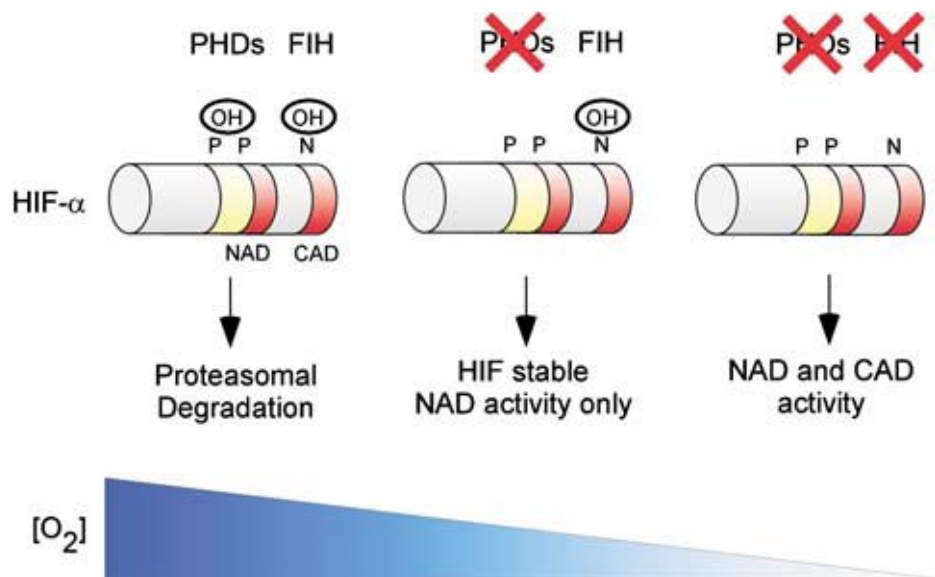


Figura 12: Activación secuencial de NAD y CAD en un gradiente de hipoxia
K. Lisy et al.(2008) Turn me on: regulating HIF transcriptional activity.
Cell Death and Differentiation.

Debido a que FIH-1 parece tener una afinidad más alta por O_2 que las PHDs, según la severidad de la hipoxia aumente, las PHDs se inactivan primero, mientras que FIH-1 requeriría una hipoxia más severa para perder la actividad (45). (Ver Fig. 12)

Existen tres tipos distintos de HIF α -prolilhidroxilasas (PHD). Su grado de expresión varía en función del órgano y del tipo de estímulo tal como una exposición hormonal (PHD1) o una hipoxia prolongada (PHD2 o PHD3). La reacción de HIF-prolilhidroxilación está en equilibrio y un aumento de la concentración de la enzima provoca una aceleración de la velocidad de reacción, disminuyendo por esta vía, el grado de activación de HIF para un nivel de oxigenación dado. Los efectos son más complejos y no se limitan al simple ajuste de la cantidad total de enzimas, no exhibiendo estas tres enzimas las mismas preferencias por los dos sitios de hidroxilación en los sustratos HIF- α y las diferentes localizaciones en el seno de la célula.

Además, la aspariginil-hidroxilación se superpone a la señal de prolil-hidroxilación. No se conoce aún el impacto de este fenómeno sobre la señal global (38).

La disminución de las concentraciones de Fe^{++} y también de ascorbato o la elevación de las concentraciones de ciertos intermediarios cíclicos del ácido tricarboxílico son capaces de modular la activación de HIF (38).

Este mecanismo es compatible con el hecho que la constante de Michaelis-Menten (K_m) para el oxígeno es relativamente elevada. La capacidad de los quelantes del hierro y del cobalto (II) de activar a HIF se explica por el hecho que éstos inactivan fácilmente a las HIF hidroxilasas (38).

1.3.3 Rol del HIF en el stress por hipoxia tisular

La activación de HIF juega un rol importante en la respuesta adaptativa de la célula a los cambios en la concentración de O_2 a través de la activación transcripcional de más de 100 genes, quienes regulan los procesos biológicos para la supervivencia y progresión celular.

El principal regulador del HIF es el oxígeno. Cuando se establece la hipoxia, hay una respuesta celular para evitar la apoptosis y se activa el factor de transcripción HIF-1 α , que genera un heterodímero con el HIF-1 β (ARNT) con acción sobre el elemento de respuesta a la hipoxia (HRE), lo que lleva a una respuesta celular múltiple con activación de oncogenes, aumento de la vascularización con producción de VEGF, aumento del transporte de glucosa (GLUT1) y de la actividad de la anhidrasa carbónica (CA9) y aún a la inducción de varios genes apoptóticos. Se sabe que el HIF actúa sobre los genes codificadores de la eritropoyetina, transferrina, endotelina-1, sintetasa inducible de óxido nítrico (iNOS), hemooxigenasa 1, proteína de unión 1, 2 y 3, factor de crecimiento insulínico (IGFBP 1, 2, 3), transportadores de glucosa (GLUT) y enzimas glucolíticas, promoviendo la adaptación metabólica a la hipoxia.(43) Todos ellos involucrados en la eritropoyesis, el metabolismo de la glucosa, en la proliferación celular, migración celular, angiogénesis, como así también la apoptosis.

La angiogénesis consiste en el desarrollo de nuevos vasos a partir de la red vascular preexistente y tiene un papel preponderante en los diversos mecanismos fisiopatológicos benignos (cicatrización, heridas, isquemia, retinopatía diabética) y malignos (crecimiento del tumor y metástasis); el VEGF desempeña un papel fundamental en la angiogénesis y está regulado por el HIF.

1.3.4 Manipulación farmacológica del sistema HIF

La vía del HIF resulta posible de ser manipulada en puntos tan numerosos como variados. Ver Fig.13 Existe, además, un muy amplio abanico de

parámetros clínicos para los que pudiera ser de interés perturbar la respuesta de HIF. Actualmente, el interés se dirige principalmente a:

- La activación del HIF en la anemia y la isquemia, aumentando la supervivencia celular y favoreciendo la angiogénesis.
- La inactivación del HIF en el cáncer, como estrategia dirigida a inhibir la angiogénesis y reducir la viabilidad de las células cancerosas en las regiones hipóxicas tumorales

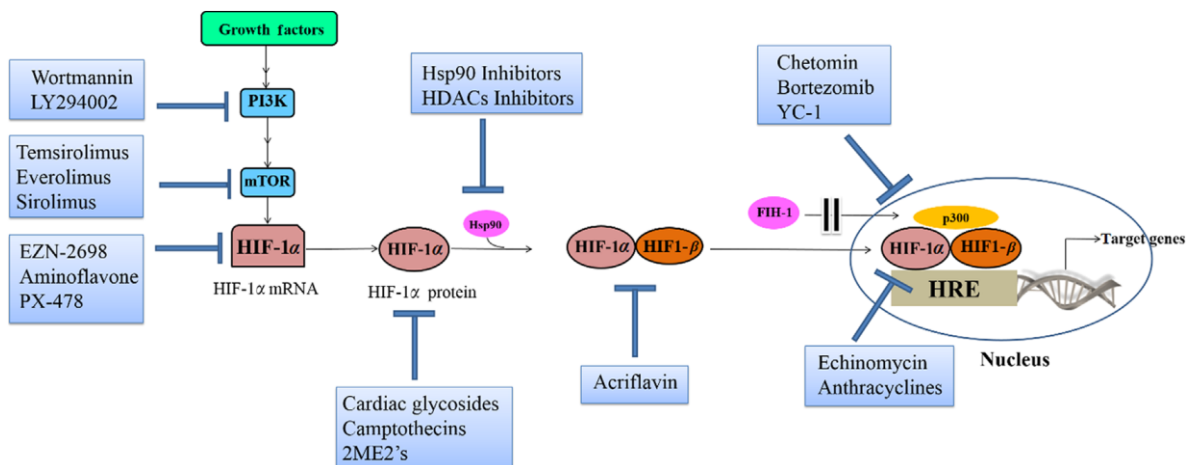


Figura 13: Manipulación farmacológica del sistema HIF

M. Koury et al. (2015) Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy. Nature Reviews Nephrology

Este control se realizaría a través de moléculas que:

- .. interfieren la transcripción del gen HIF1A (inhibidores o activadores de: Hsp90, histonadeacetilasas, topoisomerasa I)
- .. interfieren la traducción de ARNm de HIF1α
- .. interfieren la estabilización de HIF1α (inhibidores o activadores de la interfase HIF/p300, potenciadores de PDH como el ascorbato)(8,38)
- .. interfieren la dimerización de HIF
- .. interfieren la fijación de HIF1α al ADN (bloqueadores de HRE)

En ciertos estudios experimentales se ha podido observar, preocupantemente, que la inhibición de la respuesta de HIF acentúa el crecimiento o la agresividad tumorales. En el caso del carcinoma renal a células claras (CRCC), sería probablemente interesante inhibir de manera selectiva a HIF-2α que parece relativamente protumorigénico y no reducir al HIF-1α que puede de hecho favorecer la apoptosis (38).

La activación de HIF por pequeñas moléculas es manifiestamente posible a pesar de la inhibición de las PHD y/o de FIH. Es de esta manera que los agentes quelantes del hierro y los iones cobalto (Co++) inducen la

producción de EPO. Se ha mostrado que los análogos del 2-oxoglutarato, así como otros intermediarios cíclicos del ácido tricarboxílico y los agentes quelantes del hierro, son eficaces desde este punto de vista.

El contenido de hierro intracelular parece ser determinante tanto para la producción del HIF como, por ende, para la secreción de EPO por los fibroblastos maduros túbulo intersticiales del riñón. (38)

CAPÍTULO II

ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

II.1 Insuficiencia Renal Crónica. Definición

La enfermedad renal crónica (ERC) es un importante problema de la salud pública que puede afectar en sus diferentes estadios al 10% de la población y que supone una elevada morbilidad y mortalidad, así como un importante consumo de recursos del sistema nacional de salud.

Se define a la ERC como la presencia durante al menos tres meses de:

- Filtrado glomerular (FG) inferior a 60 ml/min/1,73m²
- O lesión renal

La lesión renal se puede poner de manifiesto directamente a partir de lesiones histológicas en la biopsia renal, o indirectamente, por la presencia de albuminuria, alteraciones en el sedimento urinario o a través de técnicas de imagen.

II.2 Etiopatogenia de la enfermedad renal crónica

Podemos citar factores determinantes en cada estadio de esta patología:
(21)

Factores de susceptibilidad: incrementan la posibilidad de daño renal

Edad avanzada
Historia familiar de ERC
Masa renal disminuida
Bajo peso al nacer
Raza negra y otras minorías étnicas
Hipertensión arterial
Diabetes
Obesidad
Nivel socioeconómico bajo

Factores iniciadores: inician directamente el daño renal

Enfermedades autoinmunes
Infecciones sistémicas
Infecciones urinarias
Litiasis renal
Obstrucción de las vías urinarias bajas
Fármacos nefrotóxicos, principalmente AINE
Hipertensión arterial
Diabetes

**Factores de progresión: empeoran el daño renal
y aceleran el deterioro funcional renal**

Proteinuria persistente
Hipertensión arterial mal controlada
Diabetes mal controlada
Tabaquismo
Dislipemia
Anemia
Enfermedad cardiovascular asociada
Obesidad

**Factores de estadio final: incrementan la
morbimortalidad en situación de fallo renal**

Dosis baja de diálisis
Acceso vascular temporal para diálisis
Anemia
Hipoalbuminemia
Derivación tardía a nefrología

La insuficiencia renal crónica es la pérdida gradual y progresiva de la capacidad renal de excretar desechos nitrogenados, de concentrar la orina y de mantener la homeostasis del medio interno, causada por una lesión estructural renal irreversible presente durante un periodo largo de tiempo, habitualmente meses o años (55).

De acuerdo a la clasificación ampliamente aceptada de la “National Kidney Foundation/ Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF-KDOQI 2012) la ERC se presenta en cinco estadios evolutivos en función de la tasa de filtrado glomerular (41).

Tabla 1: Estadios de la enfermedad renal crónica

Sociedad Española de Nefrología – Guías KDIGO 2014

Estadios	Descripción	FG (mL/min/1.73 m ²)	Actuación
1	Lesión renal con FG normal o ↑	> 90	Diagnóstico y tratamiento de la comorbilidad Ralentizar la progresión Reducir el riesgo cardiovascular
2	↓ FG leve	60-89	Estimar la progresión
3	↓ FG moderada	30-59	Evaluar y tratar complicaciones
4	↓ FG severa	15-29	Preparación para el tto sustitutivo
5	Fallo renal	< 15	Tto sustitutivo (diálisis)

La insuficiencia renal crónica (IRC) se corresponde a los estadios 3,4 y 5 de la enfermedad renal crónica (ERC) (29,55).

La distinción entre ERC e IRC pretende alertar del riesgo de progresión de la insuficiencia renal, cuando existe lesión renal crónica y factores predisponentes, aún con función renal normal. En sentido estricto, toda disminución del FG inferior a la normalidad podría considerarse como insuficiencia renal. Pero a efectos prácticos se entiende por insuficiencia renal un FG < 60 ml/min/1,73 m², que corresponde a las fases 3, 4 y 5(55).

CAPÍTULO III

ANEMIA EN LA
ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

III.1 - Etiopatogenia de la anemia en la enfermedad renal crónica

Las causas fundamentales que provocan anemia en pacientes con IRC pueden reunirse en cuatro grandes grupos. Tales son:

- 1 - Disminución de la producción de Epo
- 2 - Disminución de la vida media del glóbulo rojo
- 3 - Pérdida de masa eritrocitaria
- 4 - Eritropoyesis disminuida secundaria a la producción de sustancias tóxicas urémicas

Como vemos, la etiología de la anemia de la IRC es multifactorial, y en cada uno de ellos podemos citar numerosos agentes que contribuyen a los factores principales, conduciendo asociados, al cuadro anémico:

III.1.1 - Disminución de la producción de eritropoyetina

III.1.1.1 - Déficit de eritropoyetina:

El deterioro de la función depuradora renal, como así también la necrosis tubular crónica, conducen a la disminución de la cantidad de células funcionantes en el aparato yuxtaglomerular, con la consiguiente disminución en la síntesis de Epo, hallándose las concentraciones de esta hormona en sangre muy por debajo de las necesarias para mantener una eritropoyesis normal. Además, las células peritubulares sufren una transdiferenciación a miofibroblastos productores de colágeno, perdiendo su potencial de producción de Epo, proceso potenciado por el cuadro inflamatorio que acompaña generalmente a la IRC (9). (Ver fig 14)

Si bien, la Epo tiene una fuente de síntesis extrarrenal, la síntesis hepática no alcanza para corregir la anemia en pacientes con IRC.

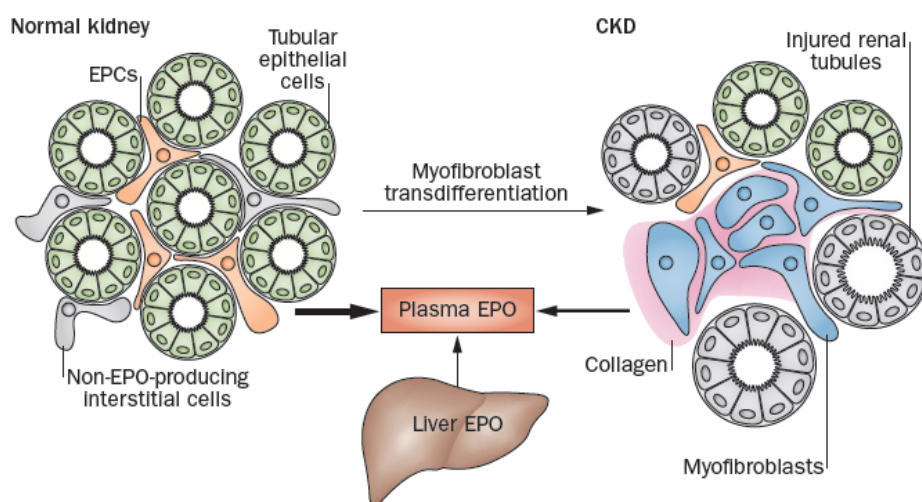


Figura 14: Deterioro de la capacidad renal para secretar Epo

M. Koury et al (2015) Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy. Nature Reviews Nephrology

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

La mayoría de los pacientes con un índice de filtrado glomerular menor a 30 ml/min/1.73m² desarrollan anemia. Los pacientes con fallo renal tienen niveles mucho más bajos de eritropoyetina que los pacientes con grados similares de anemia pero con la función intacta del riñón (9).

Por otra parte, la muerte suicida de eritrocitos jóvenes o “neocitólisis” se ha observado en individuos al volver de zonas de gran altitud. Se ha especulado que las concentraciones aumentadas de eritropoyetina confieren supervivencia a las células progenitoras, de otra manera propensas a experimentar apoptosis. La Epo inhibe la funcionalidad de los canales catiónicos permeables al Ca⁺⁺, evitando el incremento de Ca⁺⁺ intracelular y el desencadenamiento posterior del proceso de eritosis (33).

Estos hematíes sobreviven a altas concentraciones de Epo, pero mueren tan pronto declina la concentración de ésta. El retorno de condiciones de hipoxia puede rápidamente reajustar el número de eritrocitos bajo condiciones de normoxia. Vemos así que este feedback, de otra manera extremadamente lento, en estas condiciones se intensifica, reproduciéndose en toda caída de Epo como sucede en la ERC (33). Así, la deficiencia de eritropoyetina asociada a la enfermedad renal incrementa la apoptosis de progenitores eritroides en el período eritropoyetinadependiente (CFU-E, proeritroblasto, eritroblasto basófilo) (9).

III.1.1.2 - Inhibidores de la eritropoyetina:

La disminución de la eritropoyesis en la insuficiencia renal se produce también por la acción de sustancias urémicas tóxicas de la familia de las poliaminas (espermina, espermidina) y la hormona paratiroidea (PTH) generadas y/o retenidas en los cuadros urémicos (55). La PTH es capaz de inhibir la eritropoyesis al inhibir las unidades formadoras de colonias eritocitarias (BFU-E).

III.1.1.3 - Fibrosis de médula ósea:

Ésta es secundaria al hiperparatiroidismo. Cuando disminuye el FG se retienen fosfatos con una disminución recíproca de calcio. La pérdida de masa renal funcionante lleva a la menor actividad de 1 α -hidroxilasa, necesaria para la síntesis a nivel del túbulo proximal de 1,25(OH)₂D₃ o calcitriol a partir del 25(OH)D₃ de procedencia hepática.

El déficit de calcitriol tiene como consecuencia la disminución de la absorción intestinal de calcio. Tanto la hipocalcemia como la

hiperfosfatemia estimulan la síntesis de PTH. A nivel óseo, el exceso de PTH estimula la resorción ósea (55).

Las lesiones óseas que aparecen en la IRC se clasifican en enfermedad ósea de remodelado alto u osteítis fibrosa o hiperparatiroidismo secundario, y enfermedad ósea de remodelado bajo u osteomalacia. En la primera predomina la actividad de osteoblastos y osteoclastos con aumento de la reabsorción y una anómala estructuración de la matriz osteoide con liberación de fosfatos y calcio a circulación (55,42). En la segunda hay una disminución de la celularidad y una disminución en la producción de osteoide (55).

La osteomalacia se produce, entre otros factores por intoxicación aluminica (55). El aluminio disminuye la actividad de osteoclastos y osteoblastos e inhibe la PTH.

La PTH es capaz de inhibir la eritropoyesis al inhibir las unidades formadoras de colonias eritrocitarias (BFU.E) y por otro lado puede provocar un aumento de la fragilidad osmótica del hematíe y fibrosis de médula ósea, lo que disminuye la cantidad de tejido con capacidad hematopoyética (6,1).

III.1.2 - Disminución de la vida media del glóbulo rojo

La hemólisis asociada a diálisis es una causa de tipo extracorpúscular y está relacionada a una especial susceptibilidad del hematíe tanto a agentes físicos como químicos.

III.1.2.1 - Fragmentación mecánica de los hematíes:

La oclusión de las tubuladuras de la bomba de circulación extracorpórea puede causar un trauma mecánico de los hematíes, como así también los huecos, aristas, puntos muertos o fondos de saco de todo el circuito extracorpóreo del equipo de hemodiálisis.

III.1.2.2 - Deshidratación o hiperhidratación de los hematíes:

Es una consecuencia relacionada fundamentalmente con la osmolaridad de las soluciones de dializado que se utilizan.

III.1.2.3 - Recalentamiento de los hematíes:

Es producido en el recorrido del circuito extracorpóreo. . El aumento de la temperatura es un factor iniciador o desencadenante del proceso de eriptosis (10).

III.1.2.4 - Toxicidad por exposición a sustancias oxidantes:

Las normas actuales establecen pautas claras para el manejo del material que entre en contacto con el agua de diálisis y potencialmente sea capaz de introducir solutos tóxicos al dializado, como el agregado de cloro o flúor en las plantas potabilizadoras, el uso de equipos (caños, bombas, filtros, máquinas de diálisis, etc.) contruidos con materiales inadecuados (metales o plásticos de mala calidad) o materiales degradables y no inertes, diseño del sistema con puntos muertos o fondos de saco y la utilización de insumos (sales, resinas, regenerantes, sanitizantes) de calidad inadecuada para diálisis.

Todo el sistema de ósmosis inversa debe estar contruido en acero inoxidable de gran calidad. Las uniones en todo el equipo dializador deben realizarse mediante soldadura orbital, en atmósfera carente de oxígeno; este tipo de soldadura evita la posterior oxidación de las mismas una vez en contacto con el agua. Así también deben evitarse irregularidades como huecos, aristas, presencia de pegamentos o disolventes, etc. en la red de distribución (46).

La utilización de cualquier agente sanitizante (cloro al 1%, formol al 4% o ácido peracético al 1%), obliga a tener definido el método de enjuague (6,46).

La exposición del hematíe a metales y sustancias oxidantes de distinta naturaleza conduce a múltiples alteraciones, tanto funcionales como estructurales, tal es la disminución o inhibición del metabolismo energético del glóbulo rojo, la disminución del poder reductor de sus moléculas, el stress osmótico, siendo, alguno o todos ellos, fuertes factores presentes en los pacientes con insuficiencia renal (33,39,10,11).

Estas alteraciones potencian la eriptosis, proceso de muerte celular programada del eritrocito antes de la senectud, caracterizada, no por rotura de la membrana celular ni liberación del material intracelular, sino por pérdida de la asimetría de la membrana celular y la reorganización de los fosfolípidos. Recordemos que, normalmente, con un gasto energético, la membrana plasmática del eritrocito, mantiene su cara externa rica en fosfolípidos como esfingomielina y fosfatidilcolina, mientras que, en la cara interna de la bicapa lipídica, predominan la fosfatidiletanolamina y la fosfatidilserina.

El evento clave en las alteraciones anteriormente citadas es el incremento de la concentración de Ca^{++} citosólico, aunque las vías por las cuales esto ocurre en cada caso son diferentes:

En el caso de **stress energético**, la reducción de ATP disminuye la actividad de la bomba de Ca^{++} . ATPasa dependiente y en consecuencia disminuye la salida de Ca^{++} con el consiguiente incremento citoplasmático de éste. Esto produce la activación de PKC (proteinkinasa C, dependiente de calcio) la que fosforila proteínas de membrana que permiten la entrada de mas iones Ca^{++} (39). (Ver Fig. 15)

En el **stress oxidativo**, la disminución de glutatión reducido incrementa la permeabilidad al Ca^{++} a través del canal de cationes, permitiendo una mayor entrada de Ca^{++} al interior del eritrocito (39).

En cuanto al **stress osmótico**, éste activa a la fosfolipasa A_2 , que libera ácido araquidónico a partir de fosfatidilcolina. Este ácido araquidónico se convierte por acción de la ciclooxygenasa en prostaglandina E_2 (PGE_2), que activa los canales de Ca^{++} . La entrada de Ca^{++} a través de canales catiónicos activaría los canales de K^+ sensibles a Ca^{++} (canales Gardos) presentes en la membrana del eritrocito, con la consecuente pérdida de K^+ , éste arrastra al Cl^- , favoreciendo de esta manera la hiperpolarización, la salida de H_2O y la disminución del volumen celular (*shrinkage*) (33,39,10).

Estos procesos estimulan la traslocación (*scrambling*) de fosfolípidos en la membrana, produciendo la exposición de fosfatidilserina por medio de la activación de una scramblasa sensible a Ca^{++} y/o por inhibición de una aminotraslocasa sensible a Ca^{++} y dependiente de ATP.

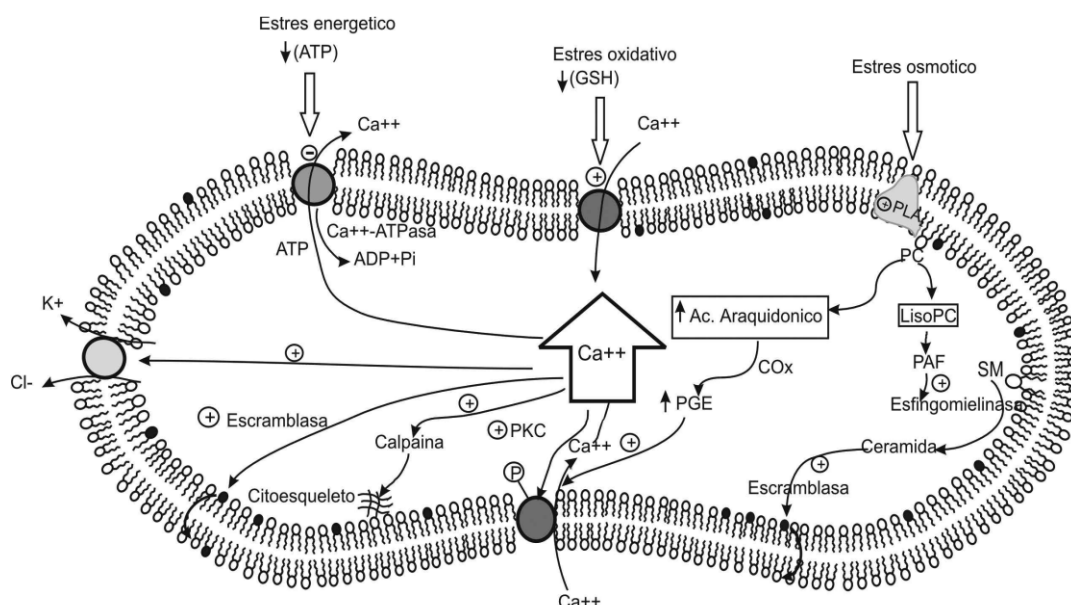


Figura 15: Esquema de las distintas vías que llevan al aumento de calcio intraeritrocitario que desencadena el proceso eritótico

V. Herlax et al. (2011) Eritosis, la muerte suicida de eritrocitos: mecanismo y enfermedades asociadas
Acta Bioquím Clín Latinoam 45 (2): 287-96

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

Un segundo estimulador de la traslocación de fosfolípidos (scrambling) de la membrana celular es la ceramida, generada a partir de la esfingomielina presente en la membrana celular, por acción de una esfingomielinasa ácida (33,39). Dicha enzima, no ha sido reportada como parte del proteoma de los eritrocitos, pero pueden estar expuestos a la esfingomielinasa ácida secretada por el endotelio vascular, los leucocitos o las plaquetas. En el eritrocito, la ceramida dificulta las interacciones entre la membrana celular y el citoesqueleto, alterando la integralidad de la primera y favoreciendo de esta manera la exposición de la fosfatidilserina y la vesiculización (39).

La acción de la fosfolipasa A_2 genera, además de ácido araquidónico, lisoderivados, los que son transformados en el factor activador plaquetario (PAF). El PAF estimula a la esfingomielinasa ácida. La fosfolipasa A_2 puede ser activada por shock hiperosmótico (39,10).

El aumento en la concentración de Ca^{++} estimula también a la calpaína, una endopeptidasa cisteínica degradadora de proteínas del citoesqueleto (banda 3) lo que lleva a que los fragmentos de la banda 3 fijen IgG autóloga, favoreciendo así la captación y fagocitosis de estos hematíes por las células de Kupffer en el hígado, o bien la pérdida de interacción entre el citoesqueleto y la membrana con vesiculización consecuente (33,39). La acción de la calpaína también fomenta el scrambling y ruptura de la asimetría lipídica de la membrana celular con exposición de fosfatidilserina. La exposición aumentada de fosfatidilserina fomenta la adherencia del hematíe a las células endoteliales y a los macrófagos (33). La eriptosis también puede inducirse por activación de la proteinkinasa C, activada por la deplesi3n energética, fuerte estimulador de eriptosis, como así también inhibirse por una proteinkinasa dependiente de GMPc. Esta GMPc kinasa es fuertemente activada por 3xido nítrico, potente inhibidor del proceso de scrambling (33,19).

Vemos así, que todo componente, mecánico o fluido, que forma parte del sistema de diálisis, debe ser totalmente inerte, ya que a través de variadas vías lleva al eritrocito a adelantar su senescencia.

Ejemplo de ello es el Zn^{++} que, en un rango de concentraciones detectable en plasma humano, es estimulante de la eriptosis (10). Activa los canales Gardos, no por un incremento en la concentración de Ca^{++} , sino por una interacción directa con estos canales. La exposición a Zn^{++} lleva a una activación de los canales Gardos, pérdida de K^+ del eritrocito, pérdida de agua, disminuci3n del volumen del eritrocito, activaci3n de la

esfingomielinasa y exposición de fosfatidilserina en la superficie del eritrocito (39).

Los restos de cloraminas, potentes oxidantes usadas como purificador del agua de dializado, pueden llevar a la transformación de la Hb en metaHb y ésta a su vez en sulfoHb, que precipita dentro del eritrocito, generando cuerpos de Heinz, que se unen a la membrana alterando la deformabilidad del eritrocito, el cual acaba por lisarse dentro de la circulación (65). Todo ello se debe a una sobreexigencia del shunt de las hexosas monofosfato por este tipo de tóxicos o químicos oxidantes.

La eriptosis iniciada por estos numerosos factores desencadena cambios eritrocitarios como:

Disminución de la actividad enzimática: piruvatocinasa (PK), hexocinasa (HK), glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD), 6 fosfogluconatodeshidrogenasa (6PGD), ATP y 2,3DPG, disminución de la ubiquitina y glutatión reducido (GSH).

Disminución del contenido catiónico (sodio y potasio) y acuoso.

Cambios en la membrana: disminución de lípidos y de la carga superficial, disminución de las glicoforinas y otras proteínas integrales, disminución de la actividad ATPasa, disminución de la proteína 4,1b con aumento de la relación 4,1a / 4,1b, aumento de la peroxidación con formación de polímeros intramembranosos, formación de agregados de espectrina-hemoglobina, desnaturalización de la banda 3 con formación de polímeros.

Cambios en la hemoglobina: aumento de metahemoglobina y Hb A₂, aumento de la afinidad por el oxígeno, aumento de glicohemoglobina.

Cambios en las propiedades físicas: aumento de la densidad celular, disminución de la deformabilidad, aumento de la fragilidad osmótica, aumento de la viscosidad.

Disminución del tamaño celular (6).

La adhesión de estos eritrocitos o de las microvesículas desprendidas que exponen fosfatidilserina, a la pared vascular puede impedir la microcirculación e iniciar el mecanismo de la coagulación (33). Así, la eriptosis podría fomentar la trombosis.

El clearance de células eriptocíticas de la circulación puede transformarse en anemia si la velocidad de eriptosis no puede ser compensada por una velocidad similar de formación de nuevos eritrocitos.

III.1.2.5 - Intoxicación por Aluminio:

Durante la diálisis se produce un fenómeno en donde la sangre del paciente toma contacto, a través de una membrana semipermeable, con el dializado compuesto por agua más el concentrado de diálisis. El agua utilizada para preparar la solución de diálisis proviene de la red de distribución de agua potable para consumo de la población. La concentración de Al es muy variable debido a que las plantas potabilizadoras usan $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ como agente floculante de sustancias orgánicas. La entrada de Al a la sangre del paciente, a través de las soluciones de diálisis es directa, y cuanto mayor sea la concentración de Al, mayor la transferencia del mismo al paciente. Mientras que un sujeto normal ingiere aproximadamente 14 lt de agua por semana, con un mecanismo selectivo de absorción; un paciente con IRC, dependiendo de la frecuencia del proceso de diálisis, toma contacto con 360 a 720 lt por semana (61).

Si bien el aluminio es capaz de depositarse en cualquier tejido, la toxicidad secundaria se manifiesta fundamentalmente en SNC (demencia), tejido cardíaco (miopatías), paratiroides, tejido óseo (enfermedad adinámica ósea) y tejido hematopoyético (anemia) (51).

Otra vía de intoxicación con aluminio es a través de su uso, en forma de hidróxido de aluminio, a partir de la década de 1970, como potente y económico quelante del fósforo, con el cual se trata de disminuir los valores de hiperfosfatemia, sobre todo en pacientes renales crónicos y sus conecuentes calcificaciones de tejidos blandos. Aunque si bien es cierto que nunca se demostró que el $\text{Al}(\text{OH})_3$ oral causara esta patología alumínica, como sí lo hacía el $\text{Al}(\text{OH})_3$ del agua no osmotizada empleada para hemodiálisis, contribuye a aumentar los niveles de este elemento en circulación (51,24).

Para hacer un balance de aluminio negativo debemos mantener una concentración en el líquido de diálisis inferior a 5 ug/l y evitar el uso de quelantes de fósforo a base de hidróxido de aluminio. Las unidades de hemodiálisis deberán tener en cuenta las características del agua de la red pública, realizando controles de aluminio en el líquido de diálisis, con mayor frecuencia en aquellas redes de distribución de agua que utilizan con frecuencia alúmina (sulfato de aluminio) como floculante (54).

Este elemento da origen a una anemia que se produce por un mecanismo de competición del aluminio con el hierro por la unión a la transferrina e incorporación a la síntesis del grupo hem, llevando a una anemia

microcítica hipocrómica con depósitos normales de Fe que responden mal al tratamiento con Epo (6).

El aluminio, además, es estimulante de la eriptosis.

La eriptosis generada por Al^{+++} se produce en paralelo con la liberación de hemoglobina, demostrando que existe una pérdida de integridad de la membrana plasmática. El Al^{+++} causa una disminución de ATP llevando a la activación de canales catiónicos no selectivos, que permiten el ingreso de Ca^{++} y Na^{+} . El incremento de Ca^{++} en la célula conduce a la estimulación de la traslocación de fofatidilserina y disminución del volumen celular; inversamente el ingreso de Na^{+} lleva a un incremento de volumen con posible hemólisis. Así, la disminución de volumen (shrinkage) asociado a la eriptosis es contrarrestado por el aumento de volumen (swelling). De hecho, es posible observar una menor susceptibilidad a la hemólisis hipotónica en eritrocitos tratados con Al^{+++} . De todos modos, ambos efectos, hemólisis y eriptosis, disminuyen el tiempo de vida de los eritrocitos en circulación, contribuyendo a la anemia observada durante la intoxicación con dicho catión (39,10).

III.1.2.6 - Anemia hemolítica microangiopática:

La hemólisis intravascular secundaria a la microangiopatía trombótica es un proceso que resulta del daño endotelial en los pequeños vasos (capilares y arteriolas), seguido por exposición del colágeno subendotelial, generación y acumulación de trombos de fibrina y plaquetas, lo que ocluye el calibre de esos vasos. Los eritrocitos al pasar por estos sitios sufren deformación o fragmentación por efecto mecánico llevando a un compromiso celular y tisular en todos los órganos blanco.

Se observó que los pacientes con IRC desarrollan enfermedad vascular más precoz y frecuentemente que la población general. A los factores de riesgo clásicos, tales como hipertensión, diabetes, dislipidemia, obesidad y tabaquismo, debemos agregar otros factores que son influyentes en la IRC: stress oxidativo, productos finales avanzados de la glicación (AGE), dimetilarginina asimétrica (ADMA), homocisteína, óxido nítrico (NO), hiperfosfatemia, productos de precipitado calcio-fósforo, como así también marcadores de inflamación. Todos estos factores estarían implicados en la patogenia de la aterosclerosis.

El stress oxidativo consiste en el predominio de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el balance entre factores oxidantes y antioxidantes. El medio urémico es proclive al predominio de ROS que, junto a otros mediadores son capaces de activar células inflamatorias (macrófagos y

linfocitos). Mediante el factor de transcripción NF- κ B se liberarían mediadores proinflamatorio, como la IL-6, que provocarían modificaciones en la pared arterial traduciéndose en el fenómeno de aterosclerosis acelerada, con oxidación de LDL, migración de leucocitos, proliferación de células musculares lisas y células espumosas, calcificación y activación de metaloproteinasas (MMP) (55,34).

Todos ellos participan en la disfunción endotelial, que es reconocida como uno de los mecanismos iniciales de la aterosclerosis en estos enfermos.

La ruptura de la placa se produce por una erosión superficial, una disrupción por la neoangiogénesis o una activación de mediadores proinflamatorios (55).

A ello se suma las alteraciones en la hemostasia normal, con consecuencias en dos procesos hemostáticos diferentes, sangrado y trombosis. Estas modificaciones por el medio urémico se dan a nivel de la interacción plaqueta-endotelio, con disminución cualicuantitativa de GPIb, alteración de la unión de la GPIIb/IIIa con el FvW, aún cuando éste se halla aumentado (sería por la interacción generada por la acumulación de fragmentos de fibrinógeno), déficit de producción de Tromboxano A₂ y aumento de la síntesis de PGI₂ y NO por el endotelio, que actúan disminuyendo la adhesión y agregación plaquetaria. Coexiste además, valores aumentados de complejo plasmina-antiplasmina, fibrinógeno y pdf, con activación de fibrinólisis. La actividad anticoagulante de PC, PS, AT pueden estar disminuidas. Estas alteraciones de la coagulación y la fibrinólisis pueden corregirse parcialmente con la diálisis, aunque predisponen al paciente a sufrir fenómenos trombóticos (6).

Los eritrocitos pueden desempeñar un papel activo en la hemostasia normal o anormal en ciertas condiciones en las que se produce perturbación de la membrana de estas células (11).

La exposición de fosfatidilserina proporciona un sitio de ensamblaje para el complejo enzimático protrombinasa y tenasa, lo cual conduce a la generación de trombina, incremento en la coagulación sanguínea y aumento de la probabilidad de eventos trombóticos (69). Ver fig 16

También, se ha descrito que estos eritrocitos se unen con más facilidad a las células endoteliales contribuyendo a una mayor vasooclusión (69). En el eritrocito, por acción de la fosfolipasa D, la fosfatidilcolina genera ácido fosfatídico. Éste actúa a través de la activación de la PKC dependiente de Ca⁺⁺. Se ha reportado incrementos de éste en procesos inflamatorios, ateroscleróticos, hipertensivos, y trombóticos (69).

El ácido fosfatídico puede dar origen al ácido lisofosfatídico por acción de la fosfolipasa A₂.

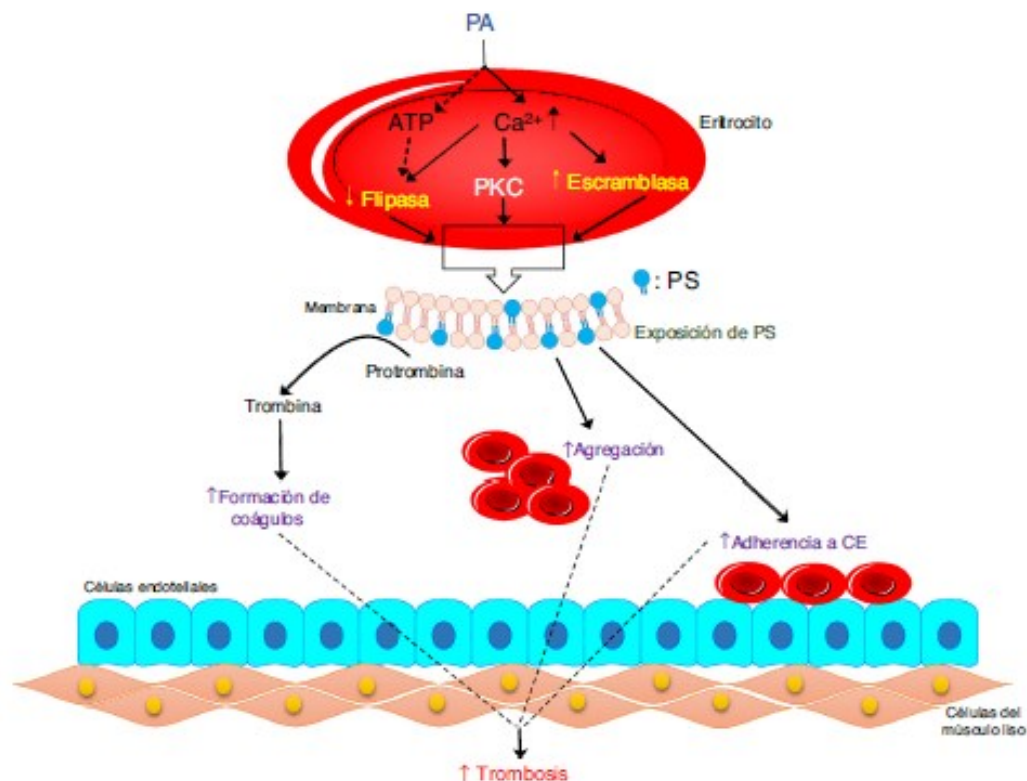


Fig 16: Actividad trombogénica del ácido lisofosfatídico en eritrocitos

F. Manzur et al García (2015). Eriptosis: mecanismos moleculares y su implicación en la enfermedad aterotrombótica. Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Elsevier

Un aspecto relevante del ácido fosfatídico y el ácido lisofosfatídico, es el efecto inhibitorio sobre la actividad de la flipasa, proteína importante en el mantenimiento de la asimetría de la membrana (69). Así, pueden favorecer la eriptosis y actuar como moléculas aterogénicas y trombogénicas. La generación de ácido fosfatídico, acompañado de una disminución de ATP, lleva a un aumento de Ca⁺⁺, activación de la scramblasa e inhibición de la flipasa. Así, los eritrocitos estimulados con ácido fosfatídico pueden inducir la generación de trombina en el plasma y aumentar la adhesión de los eritrocitos a las células endoteliales. (Ver Fig.16)

La exposición de fosfatidilserina en la superficie de los eritrocitos desencadena la adherencia al endotelio vascular a través de una proteína transmembrana CXCL16. Ésta es una quimioquina expresada en las células endoteliales, que ha sido implicada en el proceso aterosclerótico por participar como receptor de las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox) (10,19,11). Así, las interacciones PS-CXCL16 aumentan la

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

adhesividad de los eritrocitos, lo cual puede contribuir a la fisiopatología de la enfermedad microvascular en los casos que exista eritrosis excesiva. También la fosfatidilserina promueve la fijación de los hematíes a plaquetas lo que compromete la microcirculación, conduciendo a trombosis.

Las microangiopatías trombóticas son un conjunto de procesos que cursan con una alteración del endotelio vascular y presentan hallazgos característicos en el frotis de sangre periférica de una anemia hemolítica microangiopática (esquistocitos), datos de laboratorio característicos (elevación de reticulocitos y lactato deshidrogenasa [LDH]) y trombocitopenia de intensidad variable (14).

III.1.2.7 - Vasculitis:

La uremia se asocia a un estado de disfunción inmune caracterizado por una inmunodepresión que contribuye a una elevada prevalencia de infecciones, como también un estado de inmunoactivación que da como resultado un proceso inflamatorio crónico. Esa activación puede darse por:

- Stress oxidativo: la insuficiencia renal produce una reducción de la actividad antioxidante del plasma (producción aumentada de sustancias oxidantes y pérdida de antioxidantes naturales a través de la hemodiálisis) Está descrito que existe una relación entre el aumento del stress oxidativo y la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de las células del sistema inmune.

Las membranas de diálisis de baja biocompatibilidad con la sangre (ej. membranas de celulosa) además de filtrar libremente moléculas de bajo PM perdiendo antioxidantes naturales, activan a las células mononucleares circulantes y al complemento, causa potencial de inducción de la inflamación, elevando la producción de citoquinas proinflamatorias y disminuyendo la producción de antiinflamatorias.

- Modificación de proteínas: la acumulación de componentes proinflamatorios o productos del catabolismo, por ej. los productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs) generados por glicación no enzimática de proteínas, tienen capacidad para activar las células mononucleares, y éstas inician directamente una respuesta inflamatoria. La inflamación, a su vez, participa en la producción de más AGEs.

- Producción de citoquinas: por la presencia subendotelial de monocitos convertidos en macrófagos, se producen potentes citoquinas en las paredes arteriales: IL-1 β , TNF- α , IL-6, inducidas potentemente por el

factor de transcripción NF- κ B; el factor transformante del crecimiento (TGF- β), con importantes aplicaciones en la génesis de la fibrosis que acompaña a la inflamación vascular, el factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) o el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)

-Disminución de la producción de óxido nítrico (NO) y apoptosis de las células endoteliales: La producción normal de NO por el endotelio tiene como respuesta inducir vasodilatación, inhibir la activación y agregación plaquetaria, y reforzar la barrera endotelial como protectora de la pared vascular, (impide la expresión de receptores de adhesividad celular en la superficie endotelial y dificulta el paso de células inflamatorias circulantes a través del endotelio). Las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox) inducen la apoptosis y la interrupción del proceso de producción de NO de manera que aumenta la adhesividad, la migración celular a través del endotelio y se facilita la aparición de “huecos” en la superficie interna vascular debido a la apoptosis de las células endoteliales. La adhesión de las plaquetas alrededor de la lesión endotelial libera el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), que intenta reparar el daño causado.

-Aumento de las moléculas de adhesión en la superficie del endotelio vascular: El endotelio alterado induce la aparición de diferentes moléculas en su superficie : selectinas (E y P) favorecen la adhesión inicial de los monocitos a su superficie, moléculas de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) y moléculas de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) generan un proceso de adhesión firme y de trans migración de los monocitos a través del endotelio, proteínas quimiotácticas para monocitos (MCP-1) que atraen más monocitos a la pared dañada, factor estimulante de colonias de monocitos (M-CSF) que los capacita funcionalmente, y Factor Nuclear κ B (NF- κ B) implicado en la transcripción de un importante número de genes funcionales en el proceso inflamatorio.

La activación o lesión del endotelio vascular da lugar a la liberación de micropartículas endoteliales (EMPs), vesículas de menos de 1 μ m de diámetro, que las células endoteliales emiten en respuesta a una activación, lesión y/o apoptosis. La membrana de las EMPs expresan varios fosfolípidos, lípidos oxidados y diversas proteínas de endotelio como VE-cadherina, moléculas de adhesión celular endotelio-plaqueta (PECAM), E-selectina, Annexina V y otras mas, que participan en la interacción de éstas con el endotelio, las plaquetas y factores o complejos del mecanismo hemostático. Ver Fig 17

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

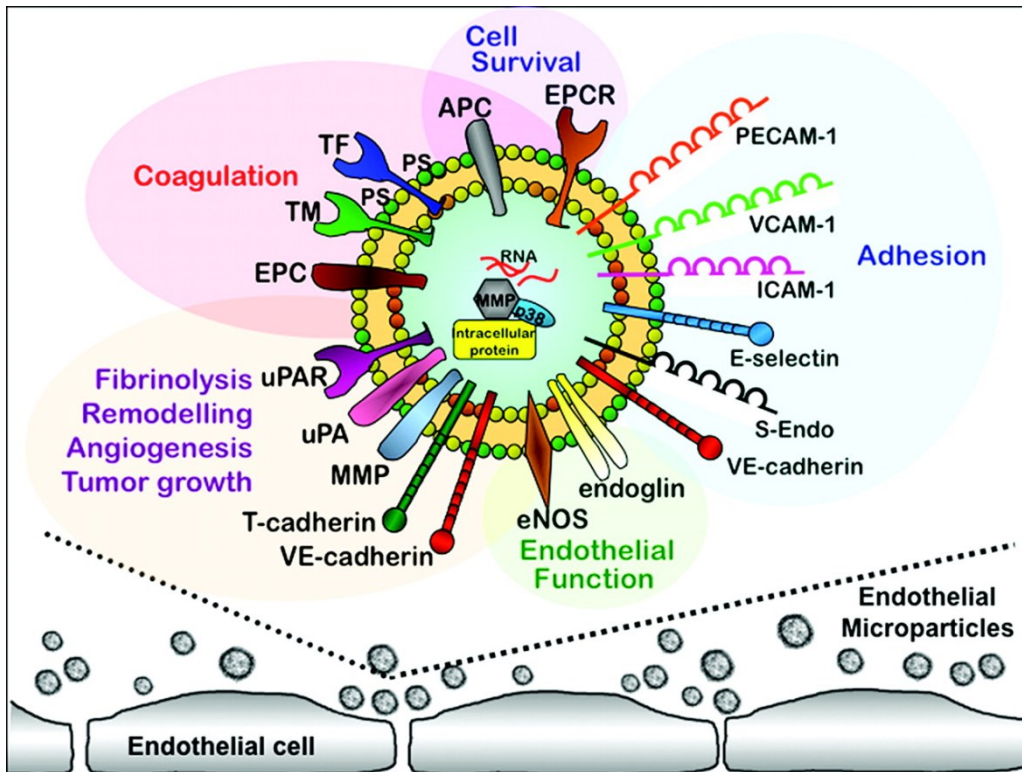


Figura 17: Estructura de una micropartícula endotelial

F. Dignat, G. Boulanger (2011) The many faces of endothelial microparticles
Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. Journal of the American Heart Association

Todos estos estímulos no son sólo proapoptóticos, sino que pueden ser proinflamatorios y protrombóticos. Así, el paso de los eritrocitos a través de una red de plaquetas y fibrina generada en la formación de microtrombos depositados en capilares y arteriolas, lleva a su adhesión, deformación o fragmentación.

III.1.2.8 - Hipertensión maligna (HM):

Los fenómenos que acontecen en la pared arterial de pacientes enfermos renales son de dos tipos. El primero, la formación de placas de ateroma en la íntima, calcificadas con mayor frecuencia que en la población general. Ello se traduce en isquemia del territorio afectado y riesgo de oclusión por trombosis. El segundo fenómeno, importante factor generador de HM, el engrosamiento, la infiltración y la calcificación de la media. La pérdida de elasticidad arterial resultante provoca un incremento de la presión arterial sistólica y de la presión del pulso, una sobrecarga cardíaca de presión y una mala adaptación a la hipotensión (55).

En los enfermos urémicos la calcificación en la túnica media del vaso, que afecta principalmente a las arterias elásticas, no se asocia a macrófagos

cargados de lípidos. Esta calcificación se produce en la matriz entre las células y no dentro de las células y ocurre en la forma de hidroxapatita.

Ambos tipos de calcificación, de la íntima como la media, son muy comunes en la IRC avanzada y pueden coexistir en un mismo vaso. Como consecuencia de ello se ven afectadas las dos funciones arteriales interrelacionadas: aportar un flujo sanguíneo adecuado a los tejidos y órganos (función de conducción), y transformar las oscilaciones cíclicas de alto flujo y presión en la aorta en un flujo capilar continuo y de baja presión (función de amortiguación) (34).

En los pacientes urémicos, las toxinas urémicas, como también la hiperfosfatemia regulan la expresión del factor de transcripción Cbfa1, (Core binding factor alpha 1) aumentándolo. Cbfa1 es el principal regulador de la diferenciación ósea y actúa como un factor de transcripción que dispara la expresión de importantes genes de la línea osteoblástica como son la osteocalcina, la osteopontina, la fosfatasa alcalina o el colágeno tipo I (34). Los osteoblastos y las células musculares lisas vasculares (CMLV) son células diferenciadas a partir de una misma célula mesenquimal pluripotencial.

En el hueso, las células madre mesenquimales se diferencian a osteoblastos bajo la acción de factores de diferenciación como el BMP2, que también se expresa en la pared de la arteria calcificada (34).

El aumento de la expresión de genes osteogénicos provoca la secreción de moléculas minerales (vesículas de matriz, proteínas ligadoras de calcio, fosfatasa alcalina y matriz extracelular rica en colágeno) (34).



Fig 18: Modulación fenotípica y calcificación de la matriz extracelular

M. Molina et al (2012) Anemia en paciente con enfermedad renal crónica:

«no todo es insuficiencia renal» *Nefrología* 3(5):8-13

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

Universidad Nacional de Rosario

La calcificación vascular está relacionada con la aparición de pequeñas vesículas de matriz con contenido citoplásmico y membrana celular intacta (al igual que sucede en el desarrollo óseo); estas vesículas se forman a partir de células donde se origina mineralización o son el resultado del proceso de apoptosis celular (cuerpos apoptóticos). (Ver fig. 18). La pared de los vasos del paciente urémico está lesionada por procesos de inflamación y stress oxidativo, por lo cual existe apoptosis celular. Las vesículas de matriz son capaces de concentrar calcio en su interior y son el origen de los cristales de hidroxapatita (34).

Las células de los vasos expresan en condiciones normales moléculas inductoras e inhibidoras de la mineralización. Entre los inductores de calcificación podemos nombrar a BMP2 (factor diferenciador de células de estirpe osteoblástica), BMP4 (inductor de la diferenciación osteogénica de células musculares lisas vasculares), oncostatina, osteocalcina, vitamina D, calcio, fósforo; y entre los inhibidores: fetuína (inhibidor de la formación de hidroxapatita), osteopontina (inhibidor del crecimiento de los cristales de hidroxapatita), osteoprotegerina (regulador de la resorción ósea), matrix Gla protein (desactivador de BMP2), magnesio, parathormona, ácidos grasos Omega 3. La modificación de su expresión, como sucede en la IRC, por efecto de las toxinas urémicas, conducen a potenciar a inductores e inhibir a inhibidores, llevando a una calcificación espontánea (35).

La pérdida de adaptabilidad a cambios de presión en los vasos, lesión y exposición de factor tisular, sumado a las microvesículas liberadas por las células lesionadas, lleva a la formación de depósitos de fibrina intravasculares, favorecido por la reducción de la actividad de los inhibidores fisiológicos (6).

El mecanismo de hemólisis obedece a la rotura de los eritrocitos en la microcirculación, debido a las fuerzas de cizallamiento generadas por la presión sanguínea al actuar sobre una luz vascular parcialmente obturada por depósitos plaquetarios y microtrombos, o un endotelio lesionado con depósitos en su interior (6). En algunos casos de HM, la fragmentación de glóbulos rojos ocurre como severa anemia hemolítica, aunque en la mayoría de los casos de enfermedad renal, la hemólisis y cambios morfológicos del hematíe son solo moderados (65).

III.1.2.9 - Hemólisis asociada a fármacos:

Los fármacos de alto potencial oxidativo son fuertes desencadenantes del scrambling en la membrana del eritrocito con exposición de fosfatidilserina y acelerado clearance de los eritrocitos (10), como así también condicionan la desnaturalización de la hemoglobina y otras proteínas eritrocitarias, generando hemólisis inmediata. La hemoglobina desnaturalizada precipita en el interior del eritrocito bajo la forma de cuerpos de Heinz y la espectrina tiende a formar agregados proteicos insolubles que aumentan la rigidez y disminuyen la capacidad de deformación de la membrana.

La acción de medicamentos con efecto oxidante potencia el stress oxidativo del paciente renal, sobreexigiendo aún más a la vía de las pentosas fosfato o la del glutatión.

Existe otro grupo de medicamentos, como α metildopa, penicilina, quinidina, en el que dichas moléculas o alguno de sus metabolitos, se fijan a la membrana eritrocitaria y actúan como hapteno, generando la aparición de anticuerpos IgG. Este efecto ocurre cuando el medicamento se encuentra en concentraciones muy elevadas, como ocurre con medicamentos de excreción renal en pacientes con IRC.

La lisis de hematíes también se da en aquellos casos en los que el medicamento interacciona con estructuras proteicas o glucídicas de la superficie del eritrocito generando un nuevo antígeno. Este neoantígeno genera autoanticuerpos IgG o IgM que actúan siempre en presencia del complemento, llevando a la lisis del glóbulo rojo (6).

III.1.2.10 - Hipofosfatemia:

Se considera una patología de escasa frecuencia en los pacientes crónicos de las unidades de diálisis afectando aproximadamente a 7% de los pacientes dializados.

En ausencia de función renal, la hipofosfatemia puede producirse por tres mecanismos: disminución del aporte de P (pacientes desnutridos a los que se administra nutrición parenteral con alto porcentaje de carbohidratos y bajo aporte de fósforo), aumento de eliminación mediante diálisis (pacientes renales críticos hospitalizados sometidos a tratamiento dialítico intenso) o paso de P desde el espacio extra al intracelular (pacientes que llegan a la hemodiálisis con valores de fosfatemia normal-bajo sumando un factor desencadenante como protectores gástricos antiácidos o ligantes cálcicos del fosforo)

La hipofosfatemia aguda da síntomas agudos graves, como la aparición de arritmias y la hipofosfatemia mantenida puede originar una miopatía crónica o miocardiopatía (60).

Es una patología asociada a la aceleración de la eriptosis, presumiblemente por quedar comprometida la generación de ATP, conduciendo al hematíe a stress energético (39,10).

III.1.2.11 - Hiperfosfatemia:

El efecto de la hiperfosfatemia es fuertemente dependiente de la concentración de Ca^{++} extracelular. El porcentaje de eritrocitos que sufren scrambling con sobreexpresión de fosfatidilserina es mayor, cuando la hiperfosfatemia es acompañada de concentraciones elevadas de Ca extracelular. El estímulo de eriptosis se lo atribuye a la formación de precipitados de hidroxapatita (CaHPO_4).

En individuos sanos, la formación de hidroxapatita es prevenida por inhibidores de calcificación. En pacientes con IRC, estos mecanismos inhibitorios están sobreexigidos por hiperfosfatemias constantes (25). La elevación del producto calcio-fósforo se ve potenciada por el uso de quelantes de fósforo a base de sales de calcio.

La estimulación de eriptosis por hiperfosfatemia o sobresaturación de fosfato de calcio contribuye a la disminución de la vida media de los eritrocitos circulantes.

La hiperfosfatemia también está estrechamente correlacionada con la calcificación de la pared vascular en enfermos urémicos (34).

III.1.2.12 - Hiperesplenismo:

El bazo es el encargado de eliminar las células circulantes de la sangre, tanto las que han finalizado su ciclo vital fisiológico, como las que han sufrido modificaciones irreversibles en su morfofisiología. La incidencia del cuadro de hiperesplenismo, definido por esplenomegalia y anemia, que mejora tras la esplenectomía es escasa en pacientes con IRC. La etiología del hiperesplenismo en estos pacientes se considera que puede deberse a:

- La introducción en el organismo de antígenos diversos (bacterianos, víricos) basándose en el hecho de que se encuentra en los bazos extirpados hiperplasia de tejido linfoide (ej. Infección por virus de hepatitis C a través de una transfusión).
- La denominada “hipertrofia de trabajo” en la que el bazo, ante la presencia de hematíes alterados o hemolizados, aumenta su tejido

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

reticuloendotelial, que a su vez incrementa el secuestro y destrucción de hematíes, creándose un círculo vicioso que agrava aún más el cuadro anémico. Las toxinas urémicas son grandes modificadoras de la membrana eritrocitaria, tanto de la distribución lipídica como de las estructuras glicoproteicas presentes.

Puede presentarse hiperesplenismo secundario a la IRC o al tratamiento, con una anemia secundaria al secuestro y destrucción de los hematíes en el bazo.

III.1.2.13 - Hepatitis crónica:

La anemia en las hepatopatías crónicas suele ser multifactorial y manifestarse de diferentes maneras. Se caracteriza por una eritropoyesis disminuida por falta de respuesta a la eritropoyetina, un bloqueo del hierro en el SRE que impide su utilización por los precursores eritropoyéticos en la medula ósea, y un acortamiento de la vida de los eritrocitos por eritrofagocitosis asociada.

Una de las formas de presentación más común en pacientes con IRC es la anemia secundaria a hemodilución por hipervolemia, con disminución de la vida media de los hematíes e insuficiencia medular. Uno de los factores agravantes de este cuadro es la nutrición inadecuada en estos pacientes, lo que aumenta el déficit de numerosos metabolitos (6).

La anemia hemolítica asociada a enfermedad hepática grave es una complicación progresiva caracterizada por la presencia de un exceso de colesterol en la membrana de los eritrocitos. La sobrecarga de colesterol a la membrana de los eritrocitos restringe la movilidad de las proteínas integrales de membrana. Así, cuando estos eritrocitos pasan por la microcirculación del bazo sufren daño en el citoesqueleto con deformación irreversible, disminuyendo su vida media (4). A través de la microscopía pueden observarse estomatocitos, acantocitos y target cell.

La OMS estima que la prevalencia de VHC-VHB es de 13% en pacientes renales en hemodiálisis, con una variabilidad de hasta el 70% en países en vías de desarrollo, como zonas de Asia, Latinoamérica o norte de África. (OMS-2012).

Con el uso extendido de eritropoyetina se ha disminuido notablemente los requerimientos transfusionales y con ello la incidencia de enfermedades transmisibles como la hepatitis B y C, como así los problemas asociados a la hemosiderosis. Sin embargo, la hepatopatía por

virus C sigue siendo la primera causa de evolución a cirrosis en un 10-20 % de los pacientes (55).

III.1.3 - Pérdida de masa eritrocitaria

Las pérdidas hemáticas en el paciente con IRC pueden tener distinto origen:

III.1.3.1 - Iatrogénicas: esta pérdida representa 4 a 8 veces la pérdida diaria normal de 1-2 mg de Fe que ocurre en el tracto gastrointestinal y piel en condiciones fisiológicas (9). Se produce por retención de una fracción de sangre en el dializador (29), durante procedimientos quirúrgicos en los que se genera o reemplaza una vía de acceso, como también en reiteradas extracciones de sangre para análisis de laboratorio. El seguimiento de esta enfermedad requiere controles analíticos continuos que añaden una pequeña pero constante pérdida de sangre.

III.1.3.2 - Gastrointestinales

III.1.3.3 - Genitourinarias: la hematuria puede presentarse asociada a proteinuria, con pérdida de transferrina, haptoglobina y Epo, con lo que el transporte de hierro circulante, ya de por sí deficitario, se altera aún más. Paralelamente a la pérdida de glóbulos rojos, se da el déficit de ácido fólico, que puede conducir a una anemia macrocítica debido a:

3.4.1 - Aumento de la demanda, secundaria a la hemólisis

3.4.2 - Restricción de la ingestión (dieta pobre en alimentos con contenido de ácido fólico)

3.4.3 - Alteración de la absorción o metabolismo por fármacos: difenilhidantoína, barbitúricos, colestiramina, anticonceptivos orales, metotrexate, pirimetamina (6).

3.4.4 - Pérdidas en el procedimiento de diálisis

III.1.4 - Eritropoyesis disminuida secundaria a la retención de sustancias tóxicas urémicas

Ya en 1847 Pierre Piorry utilizó el término uremia para indicar una condición causada por “contaminación de la sangre con orina”, refiriéndose a los signos y síntomas resultantes de la enfermedad renal que culminaba con la muerte.

El término toxina se emplea, en nefrología, para encuadrar todos los compuestos que se acumulan y causan anormalidades bioquímicas-fisiológicas en pacientes con enfermedad renal. El glomérulo renal sano

puede eliminar compuestos tóxicos de hasta 58 kDaltons. Todas las sustancias retenidas en el organismo por una disfunción renal son potencialmente toxinas urémicas.

Toda toxina urémica debe reunir los siguientes criterios: (18)

- I. La identidad química y la cantidad en los fluidos biológicos deben conocerse.
- II. Debe exceder su concentración en relación a sujetos no urémicos.
- III. Su concentración debe correlacionar con los síntomas urémicos, y los síntomas deben desaparecer al disminuir su concentración.

El síndrome urémico puede definirse como el deterioro de las funciones bioquímicas o fisiológicas en conjunto con la progresión de la enfermedad renal, resultando en una sintomatología compleja y variable.

En la insuficiencia renal, se ha sugerido que existen dos causantes principales de los síntomas y severidad del cuadro clínico producido por las toxinas urémicas. Uno es la reducida filtración glomerular o metabolismo renal y el otro es el daño de diversos tipos celulares y órganos no renales (18).

En la actualidad, se reconocen más de 90 sustancias como toxinas urémicas.

Las toxinas urémicas se clasifican preferencialmente según las características fisicoquímicas que afectan su separación durante la diálisis, que sigue siendo la opción terapéutica principal para su retiro. Esta subdivisión se centra en tres tipos de moléculas.

Se clasifican en moléculas pequeñas hidrosolubles (<500 Dalton), moléculas pequeñas unidas a proteínas (<500 D) y moléculas medias (>500 D).

Algunas toxinas urémicas:(55,18,59)

Tabla 2: Moléculas pequeñas (<500 Dalton)	
Dimetilarginina asimétrica (ADMA)	Malonildialdehído
Dimetilarginina simétrica (SDMA)	Metilguanidina
Ácido β-guanidinopropiónico	Mioinositol
Creatina	Ácido erótico
Creatinina	Orotidina
Guanidina	Oxalato
Ácido Guanidinoacético	Urea
Ácido guanidinosuccínico	Ácido úrico
Hipoxantina	Xantina

Las moléculas pequeñas son fácilmente removidas por diálisis (18).

Tabla 3: Moléculas pequeñas ligadas a proteínas (<500 Dalton)

Productos avanzados de glicación (AGEs)	Carboximetil-lisina
Ác carboximetilpropilfuranpropiónico (CMPF)	P-cresol
Fuctoselisina	Pentosidina
Glioxal	Fenol
Ácido hipúrico	Ácido hidroxihipúrico
Homocisteína	Ácido quinolínico
Hidroquinona	Espermidina
Metilglioxal	Espermina
Ácido indoxil-3-acético	Indoxilsulfato

Aunque las toxinas que pertenecen al segundo grupo tienen menos de 500 D, su capacidad de unión a proteínas las vuelve difíciles de remover por diálisis (18). Las diferencias en la capacidad de unión a la proteína fijadora o transportadora, así como las proporciones de fracción libre y unida a proteína puede modificar la toxicidad de los compuestos urémicos (18).

En pacientes con IRC, la capacidad de fijación de estas moléculas tóxicas a la albúmina está disminuida, consecuencia de la disminución de esta proteína. El efecto de la toxina se vuelve, por lo tanto, más marcado. Numerosos mecanismos son responsables de la disminución en la fijación de solutos tóxicos a las proteínas. Además de la hipoalbuminemia, la acumulación de numerosas sustancias endógenas lleva a que compitan por la fijación o los cambios conformacionales en la molécula proteica(18).

Tabla 4: Moléculas medias (>500 Dalton)

Adrenomedulina	Interleukina 6
Péptido natriurético atrial	Cadenas livianas de Ig (IgLCs) k, l
β2microglobulina	Leptina
β-endorfina	Neuropéptido Y
Factor D complemento	Parathormona (PTH)
Cistatina C	Osteocalcina
Endotelina	Proteína ligada al retinol (RBP)
Motilina	TNF α
Grelin	Adiponectina
Ácido hialurónico	Colecistoquinina
Interleukina 1-β	

Un gran porcentaje de las toxinas urémicas potencian o aceleran el mecanismo de eriptosis, caracterizado por la alteración en la distribución de los lípidos presentes en la membrana (scrambling), el aumento de la concentración citosólica de Ca^{++} y la contracción de la célula (shrinkage), reduciendo así la vida media y contribuyendo al cuadro anémico.

La **urea** es el primer soluto urémico de retención identificado y es el que se encuentra en más alta concentración en pacientes urémicos. La toxicidad de la urea ha tenido un valor un tanto evasivo, ya que se ha atribuido el síndrome urémico a la retención de solutos urémicos y no a la urea por sí misma. Sin embargo, más recientemente se ha identificado el efecto tóxico de la carbamilación de proteínas plasmáticas como la albúmina o proteínas estructurales, como las proteínas integrales de membrana del glóbulo rojo. La urea induce la disrupción de la barrera epitelial intestinal disminuyendo la expresión de proteínas de la zona ocludens intercelular, como la Claudina y Ocludina, modificando la función de barrera (7).

El **sulfato de indoxilo (IS)** es un derivado del aminoácido esencial triptófano. Por acción de la flora intestinal, el triptófano es convertido a indol, el cual es transportado por los enterocitos a la circulación portal en donde es transformado por los hepatocitos en sulfato de indoxilo. Luego pasa a circulación unido a albúmina (27). Su concentración alcanza valores 30-80 veces más altos en pacientes renales dializados (42).

El sulfato de indoxilo es estimulante de la eriptosis (10,19).

La producción de eritropoyetina quedaría disminuida por efectos generados por sulfato de indoxilo. El IS inhibiría la interacción de HIF1 α con la región HRE (93) y la posterior transcripción del gen de la Epo. El IS suprime la interacción de coactivadores como CBP y p300 (26).

El sulfato de indoxilo induce la síntesis de radicales libres, iniciando stress oxidativo. En las células de los túbulos renales y células mesangiales activa la vía NF. κ B (18,25). Provoca además, calcificación aórtica, senescencia de células tubulares renales, estimula la fibrosis renal y cardíaca e induce apoptosis celular (27,7). Activa, en monocitos, una serie de procesos proinflamatorios (producción de ion superóxido, expresión de CD11b/CD18 (Mac-1), producción de ROS (especies reactivas del O_2)).

El **ácido indolacético** provoca inhibición en el mecanismo de reparación endotelial y neovascularización (7) a través de la generación de stress oxidativo e inflamación endotelial vía p38MAPK/NF. κ B (7). Esta molécula está asociada con la inducción de la producción de factor tisular, incrementando la actividad procoagulante (7).

El **ácido fenilacético**, producto derivado del aminoácido fenilalanina, produce inhibición de la NO sintasa, como también inhibición de la ATPasa de los canales de Ca^{++} , incrementando la concentración de Ca^{++} intracelular, induciendo eritrosis (47).

La formación de metabolitos de los compuestos tóxicos urémicos es un ejemplo de alteración de su toxicidad y actividad biológica inicial. El **p-cresol** es generado también por las bacterias intestinales como metabolito de los aminoácidos tirosina y fenilalanina, el cual provoca inhibición de la función leucocitaria, mientras que su metabolito, el **sulfato de p-cresol** demuestra actividad proinflamatoria, activando la producción de radicales libres (18,47)

El **ácido hipúrico** y los **hidroxihipuratos** están involucrados en la inhibición de los canales de Ca^{++} ATPasa, necesarios para restaurar la homeostasis celular del Ca^{++} después de la activación de la célula. Inhibe las enzimas caspasas, necesaria para varios mecanismos presentes en los granulocitos, como el estallido oxidativo o la degranulación (7).

Otros solutos ligados a proteínas como el **ácido carboximetilpropilfuran-propiónico (CMPF)** ejercen efectos tóxicos sobre sistemas enzimáticos, por ej. sobre la transketolasa, enzima eritrocitaria de la vía de las pentosas.

La reacción de la glucosa, otros carbohidratos y sus productos de degradación, con proteínas, específicamente con residuos de lisina, vía glicosilación no enzimática y oxidación de proteínas, da lugar a los **productos avanzados de la glicación o AGEs**. En la diabetes y en la IRC se acumulan. Los AGEs inducen varios efectos biológicos como la producción de citoquinas con efecto proinflamatorio (**carboxietil lisina, carboximetil lisina**) elevando la producción de radicales libres por los monocitos (47). También inducen apoptosis de polimorfonucleares, estimulación del stress oxidativo, inhibición de NOS, y estimulan la síntesis de TNF (18,47). Los AGEs se han relacionado con disfunción endotelial (migración y proliferación de células de músculo liso (18) y aterogénesis acelerada y activación de leucocitos (18). Los AGEs también se relacionan con el depósito de β_2 microglobulina en la amiloidosis secundaria en diálisis (55). Los **productos de degradación de los AGEs** son aún más agresivos que aquellos que le dan origen. Algunos de ellos son **3-deoxiglucosona, fructoselysina, acroleína, glyoxal, metilglyoxal, N acetilcarboximetil lisina, pentosidine** (18,25). El metilglyoxal produce una glicación no enzimática de HIF 1α suprimiendo su función (26).

Se han descrito metabolitos resultantes de la oxidación de proteínas, denominados **productos avanzados de la oxidación proteica (AOPP)**. Su acumulación en la insuficiencia renal es el resultado de una alteración del balance en el equilibrio entre factores prooxidantes y antioxidantes a favor de los primeros. Los AOPP activan los monocitos, aumentan la síntesis de TNF α y son mediadores de la inflamación.

Los AOPP se relacionan con la aterosclerosis acelerada de la insuficiencia renal.

La **dimetilarginina asimétrica (ADMA)** es un inhibidor endógeno de la sintasa del óxido nítrico (NOS). Su acumulación en la IRC disminuiría la producción de óxido nítrico (NO), potente vasodilatador e inhibidor del scrambling de la membrana celular, provocando disfunción endotelial (7,33). Su nivel elevado puede ser resultado de la inhibición de la enzima DDAH (Dimetilarginina dimetilamino hidrolasa) en la hiperhomocisteinemia.

La alta concentración de ADMA se asocia a altos niveles de TNF α e IL 6, como así también a alto riesgo de eventos cardiovasculares y muerte (7).

La **dimetilarginina simétrica (SDMA)** también inhibe la síntesis de óxido nítrico, aunque con un mecanismo diferente. Esta inhibición es dosis dependiente y juega un rol importante en la activación de leucocitos a través de la generación de ROS (especies reactivas de O₂) tales como O₂(-), H₂O₂ u OH(-) atribuido al incremento de Ca⁺⁺ intracelular, vía canales de Ca⁺⁺ y activación del factor nuclear NF-K β (7,39).

Las **proteínas carbamiladas** se generan cuando grupos amino son modificados por cianatos, el cual es generado espontáneamente a partir de la urea (47).

La acumulación de **derivados guanidínicos** (**metilguanidinas, ácido guanidinoacético**) están relacionados con la activación de leucocitos, especialmente neutrófilos y monocitos/macrófagos, y el incremento de las manifestaciones neurológicas y ateroscleróticas. Son responsables de la producción de TNF α e interleuquina 6 (18,47,7).

La **leptina** es un péptido regulado por el gen *ob*, producida por los adipocitos. Actúa disminuyendo el apetito, aumentando la termogénesis, disminuyendo el peso y la grasa corporal. En muchos pacientes con IRC, aunque no todos, existe hiperleptinemia. Por ello, se ha sugerido que la leptina sería la responsable de la anorexia y caquexia urémicas. Además, la leptina induce la expresión de factor tisular en células mononucleares, contribuyendo a la aterosclerosis con un rol importante en la trombosis e inflamación (47).

Las cadenas ligeras de inmunoglobulinas (IgLCs) en sus formas k y l son sintetizadas por las células B en ligero exceso a las cadenas pesadas. Están presentes en el suero de individuos normales en muy pequeña cantidad, siendo eliminadas principalmente por la orina. En procesos linfoproliferativos, las IgLCs pueden depositarse en el riñón y ser causa de nefropatía. En la IRC se detectan niveles séricos elevados de IgLCs. Se ha demostrado que las IgLCs interfieren con las funciones de los neutrófilos, inhibiendo la quimiotaxis, activando la captación de glucosa e inhibiendo la apoptosis. Todo ello contribuiría a una mayor susceptibilidad a las infecciones.

La **homocisteína (Hcy)** es un derivado de la desmetilación de la metionina, activa la vía NF.K β en macrófagos, lo cual está asociado a incrementos significativos de los niveles intracelulares de anión superóxido, un efecto suprimido por el ácido fólico (47). En la población general, la hiperhomocisteinemia es un factor predictivo de riesgo cardiovascular. La hiperhomocisteinemia es tóxica para el endotelio vascular, favoreciendo la proliferación de la fibra muscular lisa, la agregación plaquetaria y la trombosis.

La retención de la mayor parte de los compuestos urémicos conduce a los pacientes con IRC a tener características alteraciones hemáticas y endoteliales con consecuencias hemorrágicas durante el curso natural de la IRC, mientras que se vuelven predominantes los factores protrombóticos una vez iniciada la terapia de diálisis.

Estos compuestos urémicos llevan a que las plaquetas presenten alterados sus mecanismos de adhesión y agregación, debido a una disminución cualicuantitativa de GPIb y disminución cualitativa de GPIIb/IIIa respectivamente, como también disminución del contenido de los gránulos densos plaquetarios (ADP, FP4, serotonina) y liberación disminuída del contenido de los gránulos α (trombospondina y trombosmodulina). Una vez establecida la terapia de diálisis, se presenta hiperagregabilidad por activación plaquetaria, aumento de fibrinógeno, Factor VIII y Factor von Willebrand, disminución de Proteína C y Proteína S e hipofibrinólisis (debido al aumento de PAI).

La medida de la toxicidad es un proceso complejo porque, no uno, sino varios compuestos tóxicos pueden estar simultáneamente implicados en la alteración del mismo mecanismo biológico. Se ven afectados casi todos los componentes estructurales y funcionales del hematíe, así también, órganos y sistemas del cuerpo por la toxicidad de los compuestos urémicos retenidos en el curso de la falla renal (18).

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

A medida que disminuye el FG, aumenta la concentración sérica de muchas de estas moléculas. Respecto de un paciente con función renal normal, la concentración plasmática puede encontrarse aumentada 5 veces en los pacientes con falla renal crónica leve, 18 veces en pacientes en diálisis peritoneal y más de 40 veces en pacientes en hemodiálisis (18). Los valores más elevados se registran en los pacientes en diálisis. Las membranas de hemodiálisis de flujo bajo depuran muchas de las moléculas pequeñas. No obstante, no sucede lo mismo con las de mayor tamaño o unidas a proteínas. Las membranas de hemodiálisis de flujo alto son capaces de depurar algunas de las moléculas medias. Otros solutos son difíciles de eliminar debido a su metabolismo particular.

III.2 Enfermedad renal crónica y génesis hemática

En un paciente con IRC, la génesis de los hematíes se encuentra afectada por dos grandes factores influyentes. Estos alteran a fundamentales procesos que mantienen la viabilidad y funcionalidad del glóbulo rojo: la síntesis proteica y la disponibilidad férrica.

Las distintas formas que componen la progenie eritroide utilizan una sensible red de mecanismos para mantener la integridad y la funcionalidad de sus componentes proteicos. Estos mecanismos regulan la síntesis, plegamiento y degradación a través de una vía denominada UPR, la que sigue dos vertientes, la homeostasis de la vía, denominada proteostasis, que mantiene la función del RE y la viabilidad celular; y el camino apoptótico de UPR que elimina las células disfuncionales por activación de genes blanco proapoptóticos.

Bajo condiciones normales, las proteínas sintetizadas en el RE se pliegan por la acción de proteínas chaperonas con posteriores modificaciones hacia la maduración y funcionalidad de la proteína. Bajo condiciones desfavorables del microambiente celular, se genera un desbalance entre la síntesis y el plegamiento de proteínas resultando en la acumulación de proteínas sin plegar o mal plegadas, generando el stress del RE. Estas proteínas defectuosas son degradadas por proteosomas. (Ver fig. 19)

En un medio urémico, la exacerbación del sistema de degradación provocado por el stress oxidativo, stress osmótico, stress energético, stress glicativo, metilaciones, fosforilaciones, acetilaciones y un sin número de modificaciones desfavorables en las estructuras proteicas por los metabolitos urémicos acumulados, lleva a la pérdida de la proteostasis

con derivación de la UPR a la apoptosis eritroide., a través de la activación de genes blanco proapoptóticos (1).

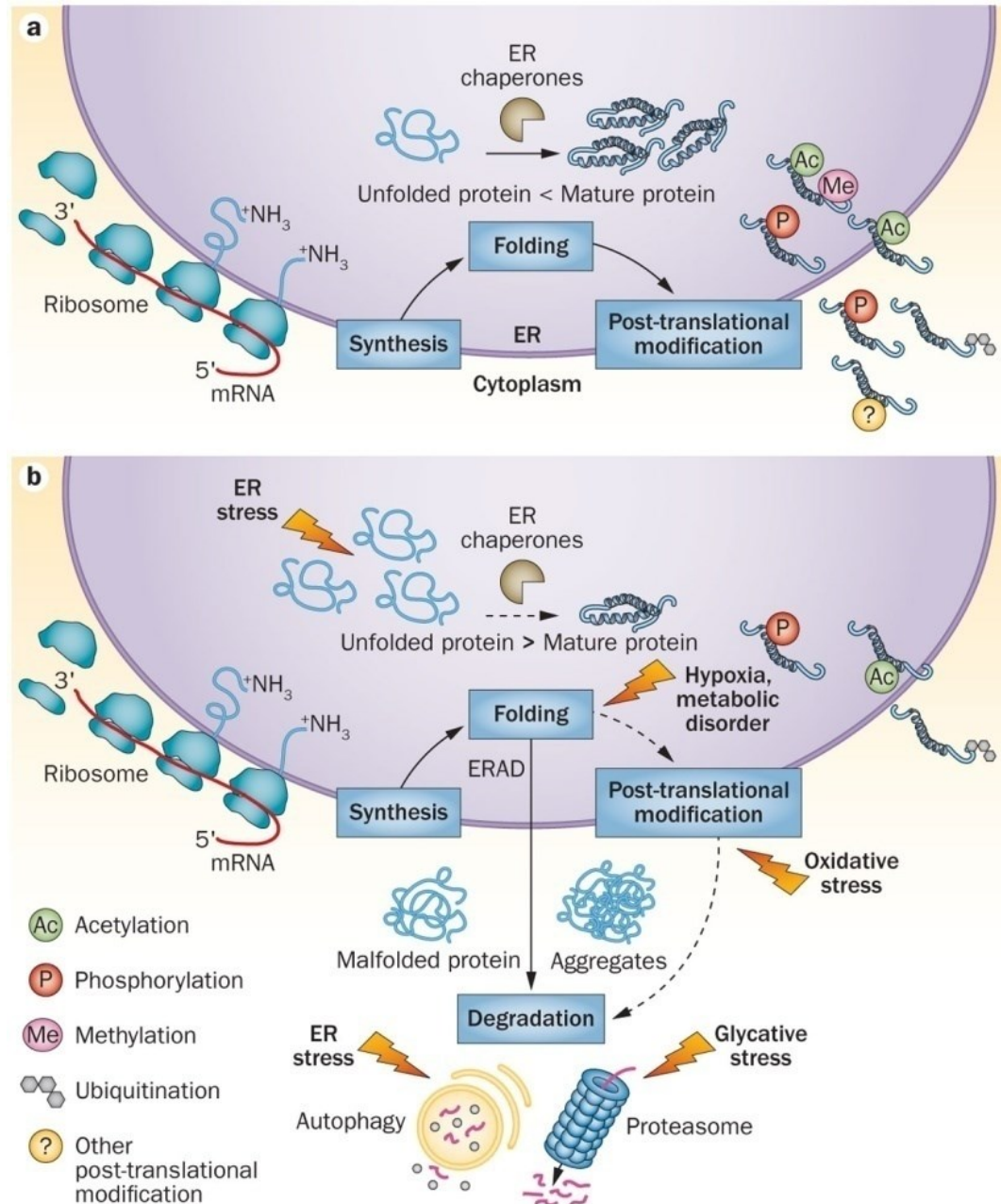


Figura 19: Mecanismo de proteostasis en retículo endoplásmico en la enfermedad renal

R. Inagi et al (2014) Nature Reviews Nephrology 10, 369–378

El segundo gran problema que enfrenta la eritropoyesis en su desarrollo en pacientes con insuficiencia renal es la disponibilidad de Fe para la formación de Hb. La concentración de hierro, la hipoxia, la anemia y las citoquinas proinflamatorias presentes en un gran porcentaje de pacientes con IRC controlan la síntesis de un gran péptido regulador como lo es la hepcidina.

La hepcidina es la llave reguladora en la homeostasis del Fe y juega un rol importante en la patogénesis de la anemia en la enfermedad renal crónica.

Bajo condiciones fisiológicas, la concentración de hepcidina presenta un ritmo circadiano natural, que no se relaciona con períodos dietarios diurnos; es un péptido de síntesis hepática que circula unido a α_2 macroglobulina y en menor medida a albúmina. En los pacientes renales que se dializan, este ritmo circadiano está ausente (12) y los valores aumentados se los adjudica al cuadro inflamatorio crónico asociado y al clearance disminuido de la hepcidina. El clearance de hepcidina ocurre vía degradación celular en el sitio de acción y vía excreción urinaria. (filtra libremente y es reabsorbida por las células epiteliales tubulares, eliminándose 3-8%) (22,12).

Una de las citoquinas responsables del incremento en la síntesis y liberación de hepcidina es la IL-6, la cual activa la vía JAK2-STAT3 . Después de la fosforilación de STAT3 por JAK2, el factor de transcripción STAT3 trasloca al núcleo y se fija a cofactores transcripcionales los que se unen a genes target, entre ellos, el gen de la hepcidina, lo que incrementa su transcripción. Se ha planteado también una posible interacción con la vía BMP/Smad. Otras citoquinas inflamatorias ejercen igualmente su función en la activación de la transcripción de la hepcidina como la ACTIVINA B, a través de la vía BMP/Smad1/5/8 (22,12,15,9). (Ver Fig. 20)

El stress del retículo endoplásmico, estado celular derivado de la acumulación de proteínas inadecuadamente plegadas, es también un inductor de la expresión de hepcidina a través de la vía UPR (*unfolded protein response*).

Otro elemento que se ha planteado que contribuye a la respuesta de la hepcidina al estímulo inflamatorio es la CREBH (*cAMP response element binding protein H*), factor transcripcional que es activado durante el stress del retículo endoplásmico para promover la producción de proteínas de fase aguda.

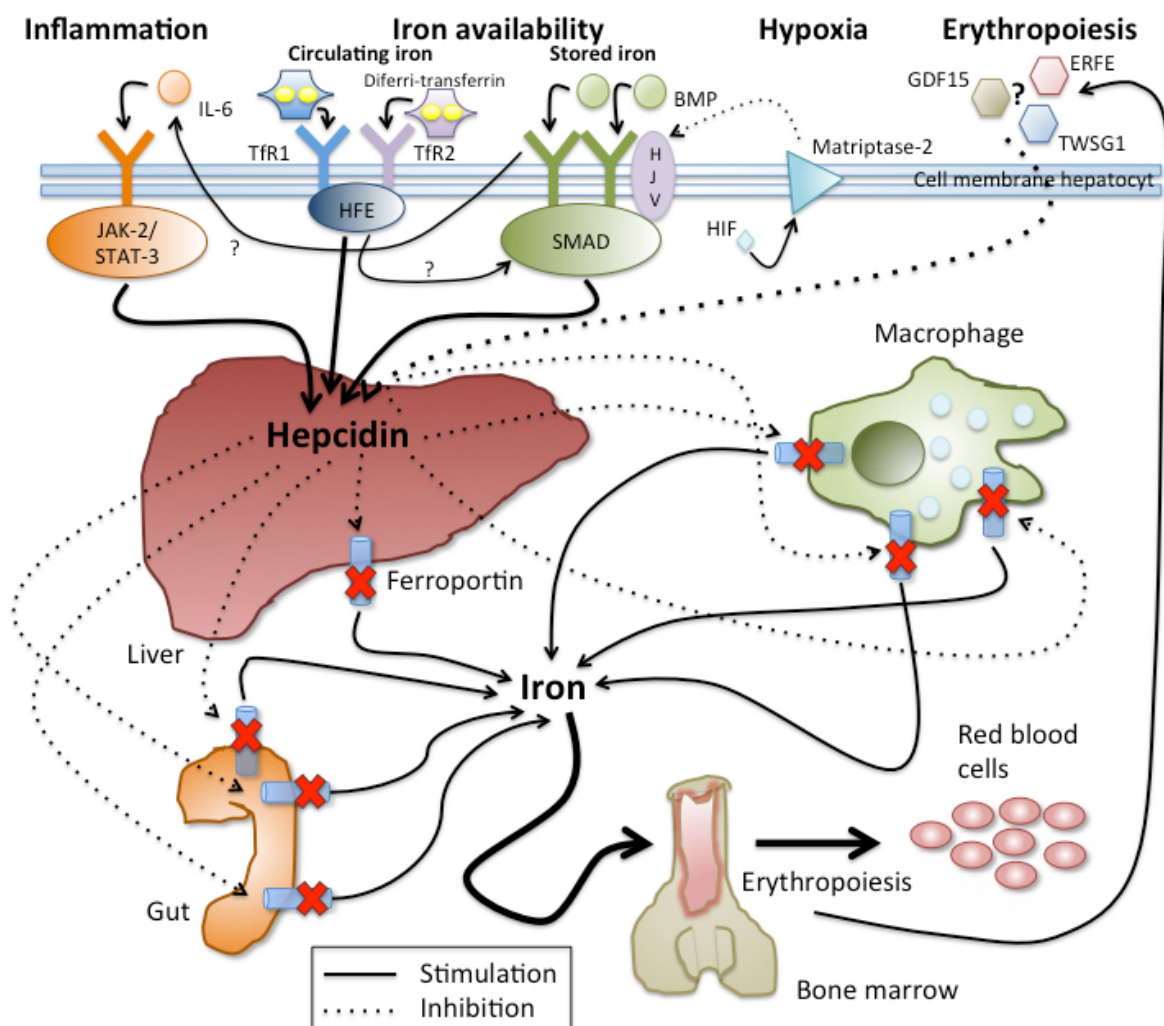


Figura 20. Regulación del metabolismo férrico en IRC

N. van der Weerd et al (2015) Hepcidin in chronic kidney disease: not an anaemia management tool, but promising as a cardiovascular biomarker. The Netherlands Journal of Medicine Vol 73 N3

La expresión de la hepcidina es también modulada por la hipoxia, a través de la acción del HIF (*hypoxia inducible factor*), factor de transcripción que promueve la expresión de genes que median la respuesta a la hipoxia. Una vez que HIF1 α trasloca al núcleo y dimeriza con HIF1 β , se fija a tres puntos HREs (hipoxia responsive elements) de la región promotora del gen de la hepcidina, inhibiendo su expresión (15). No obstante, se ha planteado que es posible que la hipoxia pueda afectar la producción de hepcidina localmente en el hígado por otros mecanismos como son el aumento de los niveles de Hemojuvelina soluble, el incremento de la expresión de la Tmprss6 o ambos.

Así como HIF regula los niveles de hepcidina, también regula la expresión de otras moléculas implicadas en el metabolismo férrico. HIF también lleva al incremento transcripcional del DMT1 (transportador de metales

divalentes 1) transportador de Fe al interior de la célula y DCTYB (duodenal cytochrome b reductase) reductor de Fe^{+++} a Fe^{++} (9). Otros factores regulados por HIF son Transferrina (transporta Fe^{+++} en plasma), Rf Transferrina, Ceruloplasmina (oxida Fe^{++} a Fe^{+++}), Hemo.oxigenasa 1 (crítica para el reciclado del Fe de los eritrocitos fagocitados) y Ferroportina.

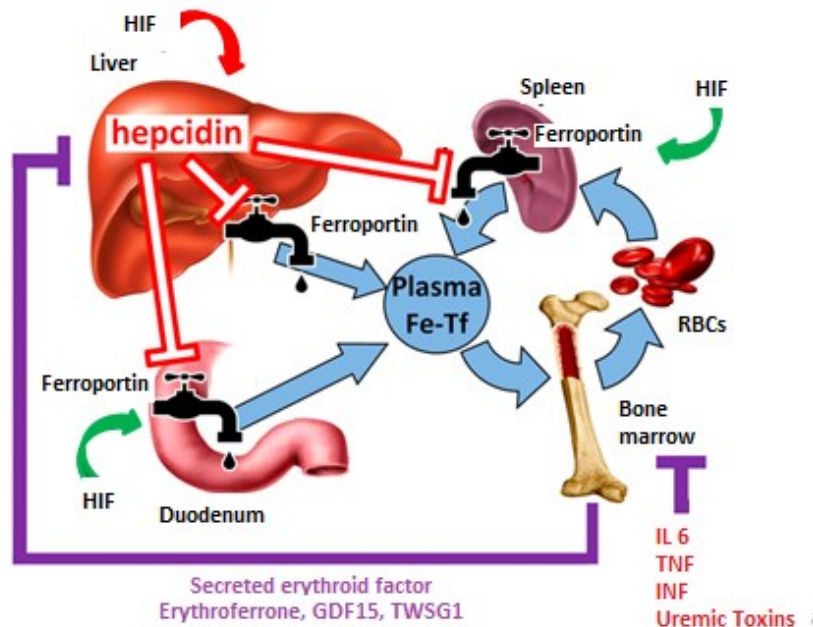


Figura 21: Mecanismo de control de la hepcidina

L. Kautz. E. Nemeth (2014) Molecular liaisons between erythropoiesis and iron metabolism
BLOOD, VOL 124, NUM 4

En contraposición a la inhibición de la expresión de la hepcidina por HIF, un factor que mantiene la hepcidina en valores aumentados es la disminución de la producción de mediadores relacionados a precursores eritropoyéticos: ERFE (eritroferrona – mecanismo de regulación desconocido, no relacionado a la vía BMP/HJV/SMAD), GDF15 (growth differentiation factor 15) , TWSG1 (twisted gastrulation 1) (12,22,15). La enfermedad renal, la deficiencia renal y la inflamación crónica llevan a la reducción del número de eritroblastos productores de estos mediadores (9). En adición a los efectos supresores de la producción de Epo en el cuadro renal agudo, las citoquinas inflamatorias IL6, TNF e IFN γ inhiben la diferenciación de progenitores eritropoyéticos. (Ver Fig. 21)

De esta manera vemos que la hepcidina tiene un papel importante en la patogenia de la anemia de la enfermedad renal crónica. Las células blanco de la hepcidina, en las que ésta lleva a la internalización y degradación de la ferroportina son los macrófagos, que reciclan el hierro de eritrocitos

senescentes fagocitados; los hepatocitos, mayor depósito de hierro, y los enterocitos duodenales, que absorben el hierro dietario.

III.3 Cuadro clínico del paciente renal

El principal impacto de la anemia es la disminución de la liberación de oxígeno a los tejidos con el consiguiente **aumento de la fatiga e intolerancia al esfuerzo**. El deterioro de la función cardiovascular (hipertrofia ventricular izquierda) contribuye a la aparición de hipo/hipertensión.

El hígado y los riñones juntos componen un sistema de órganos responsables de la eliminación de compuestos tóxicos del organismo. La pérdida de la función renal afecta a casi todos los órganos y sistemas del cuerpo por la toxicidad de los compuestos urémicos retenidos. El paciente sufre de trastornos del sistema nervioso central (**cefalea, deterioro de la capacidad cognitiva, demencia, depresión, sociabilidad reducida, desórdenes del sueño, estupor**) y del sistema nervioso periférico (**polineuritis, calambres, debilidad**). También se presentan síntomas gastrointestinales (**anorexia, dispepsia, náuseas, vómitos, ulceración gástrica**), respiratorios (**pleuritis, apnea del sueño, enfisema**), dérmicos (**prurito, melanosis**) y óseos (**dolor óseo, osteoporosis, fibrosis ósea, osteomalacia**). En estadios más graves de la patología renal son frecuentes los episodios de sangrado gastrointestinal o genitourinario, epistaxis y pericarditis hemorrágica (4).

En pediatría, la anemia contribuye al **retraso del desarrollo físico y psíquico** (48).

III.4 Cuadro bioquímico del paciente renal

El paciente con insuficiencia renal crónica presenta poliuria al principio del cuadro y oliguria en fases finales, proteinuria variable (cociente Alb/Creat > 300 mg/g), albuminuria (cociente Alb_u/Glob_u aumentado), microhematuria no urológica y cilindros granulosos e hialinos.

La química hemática se caracteriza por uremia con retención de ácido úrico, creatinina y otros derivados del catabolismo proteico.

La retención de Na es tanto más frecuente cuanto más cae el filtrado glomerular. La hipernatremia es muy común en IRC, aunque podemos encontrar hiponatremias, dependiendo de si la lesión es mayor en zona cortical o medular. La hipernatremia se acompaña de hiperkalemia (> 5,5 mEq/l o < 3,5 mEq/l sin recibir diuréticos) y tendencia a la acidosis (por pérdida del ión bicarbonato en orina).

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

También se retienen los fosfatos y sulfatos y en algunos casos puede coexistir con hipermagnesemia e hipocalcemia (por la disminuida producción de calcitriol).

En general existe disproteinemia con hipoproteinemia, disimulada a veces por la hemoconcentración. (cociente $\text{Alb}_s/\text{Glob}_s$ disminuido o invertido debido a la marcada hipoalbuminemia, mientras que están aumentados el fibrinógeno, y las fracciones globulínicas α_2 y β)

En un gran porcentaje, los pacientes renales presentan dislipidemia, con hipertrigliceridemia y colesterolemia que supera 300 mg/dl con aumento de LDL y disminución de HDL, debido a una disminución del catabolismo de las lipoproteínas de baja densidad. Esto suele coexistir con hiperglucemias, debido a la resistencia periférica a la insulina. Otras alteraciones endocrinas, en general provocadas por las toxinas urémicas, son disminución de los valores de hormonas tiroideas (T_3 y T_4), disminución de la respuesta de la ACTH a la hipoglucemia, hiperparatiroidismo con niveles elevados de PTH y disminución de testosterona y estradiol, lo que provoca retraso puberal en niños y disminución de la libido en adultos.

También encontramos aumento de la actividad de la renina, causante de hipertensión.

III.5 Evaluación de la anemia en la enfermedad renal crónica

El estudio de un cuadro anémico en pacientes renales debe constar de:

- Hemograma completo con observación de la morfología eritrocitaria
- Índices hematimétricos: volumen corpuscular medio (VCM), Hb corpuscular media (HCM), concentración de Hb corpuscular media (CHCM).
- Recuento de plaquetas y observación morfológica
- Parámetros férricos: ferremia, transferrina, IST, TIBC, ferritina y RcSTf
- Porcentaje de eritrocitos hipocrómicos
- Reticulocitos
- Fracción de reticulocitos inmaduros
- Hemoglobina reticulocitaria
- Hepcidina
- LDH
- Haptoglobina
- PCR
- Coombs directa e indirecta
- Vitamina B_{12} y folatos

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

- SOMF
- Eritropoyetina

III.6 Cuadro hematológico del paciente renal

La anemia es una complicación frecuente en la IRC y su severidad está en relación directa con el grado de deterioro renal (49).

En pacientes con IRC, la anemia se define como aquella situación en la que el nivel de Hb está por debajo de 2 DE del nivel medio de Hb de la población general, corregido para edad y sexo. Estos valores corresponden a:

- < 11,5 g/dl en mujeres adultas premenopáusicas (según SEN) (<12 g/dl según KDOQI , OMS y ERBP)
- < 12,0 g/dl en mujeres posmenopáusicas
- < 13,5 g/dl en varones adultos (según SEN, KDOQI y ERBP)(<13,0 g/dl según OMS).
- < 12,0 g/dl en varones adultos con edad > 70 años (según SEN y OMS) (<13,5 g/dl según KDOQI y ERBP)
- < 11.0 g/dl en niños de 0.5 a 5 años (según KDIGO 2012)
- < 11.5 g/dl en niños de 5 a 12 años
- < 12.0 g/dl en niños de 12 a 15 años

Los valores indicativos de normalidad en la eritropoyesis varían en función de la edad y del sexo, así como de la capacidad de fertilidad. Aún siendo cierto que niveles inferiores son diagnósticos de anemia, en la insuficiencia renal crónica (IRC) el inicio del estudio de la anemia cabe cuando la reducción del nivel de Hb sobrepasa el umbral a partir del cual la anemia es capaz de generar morbilidad. Esta circunstancia se da cuando los niveles indicadores de eritropoyesis caen por debajo del 80% del valor medio de normalidad.

- Hemograma y observación de la morfología eritrocitaria

La anemia asociada a la IRC habitualmente es normocítica y normocrómica en su origen (29,21,41,48). Morfológicamente es indistinguible de la anemia de otras enfermedades crónicas. En estadios más avanzados de la patología renal aparecen formas microcíticas hipocrómicas como anulocitos (Fig IV.g, VIII.g) o macrocitosis secundaria al déficit de vitamina B₁₂ o ácido fólico (Fig III) (29,6,48).

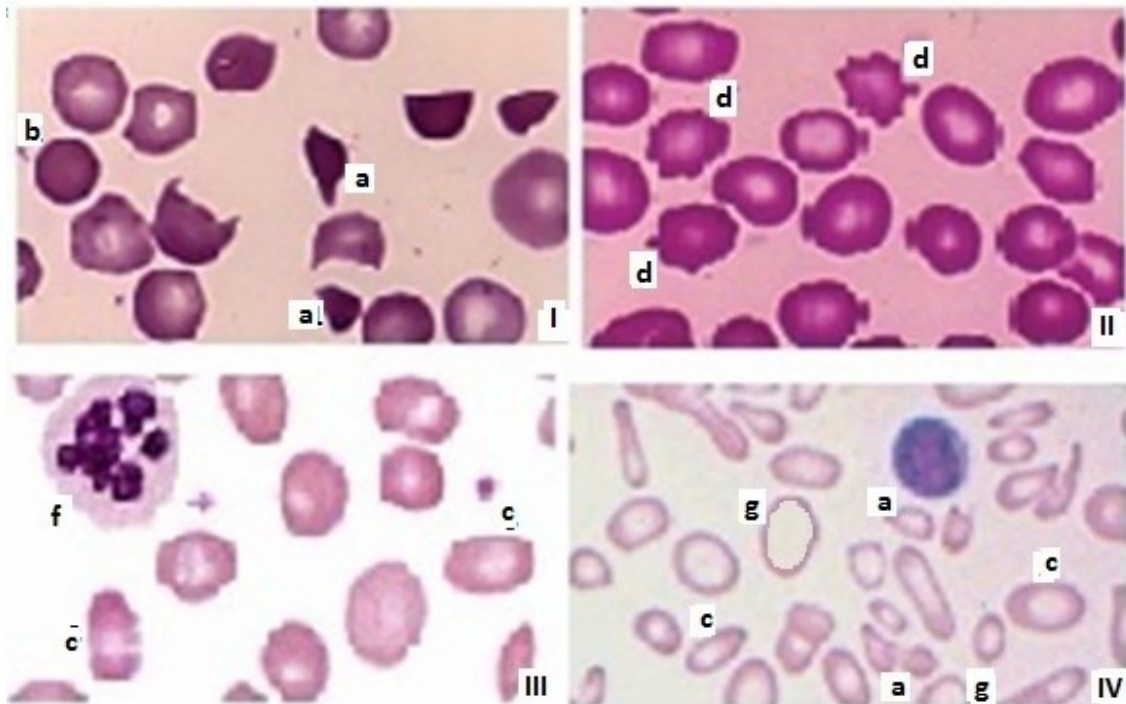


Figura 22: La hipocromía y la presencia de esquistocitos, esferocitos y ovalocitos se vuelve más frecuente en los estadios más avanzados de la IRC
H. Thelml, H. Diem, T. Haferlach, (2004) Color Atlas of Hematology
Practical Microscopic and Clinical Diagnosis. Thieme. Stuttgart · New York

Morfológicamente los hematíes pueden presentar espículas (equinocitos o burr cells) como un trastorno reversible, en ciertas situaciones, al normalizarse el valor de urea (6,1,66) o la hipofosfatemia (el stress energético bloquea la producción normal de ATP) (6). En un eritrocito que expone fosfatidilserina en su membrana celular, la forma normal discoidea de estas células pueden transformarse, debido a la microvesiculación de su membrana plasmática en esferocitos (Fig I.b,VIII.b) (69). El stress oxidativo también genera otras formas típicas de la patología como son los estomatocitos (Fig VII).

También pueden observarse esquistocitos (Fig I.a,VIII.a) y acantocitos (Fig II.d) (1). La presencia de esquistocitos es indicativo de una anemia microangiopática asociada, por hipertensión maligna, vasculitis o síndrome hemolítico urémico.

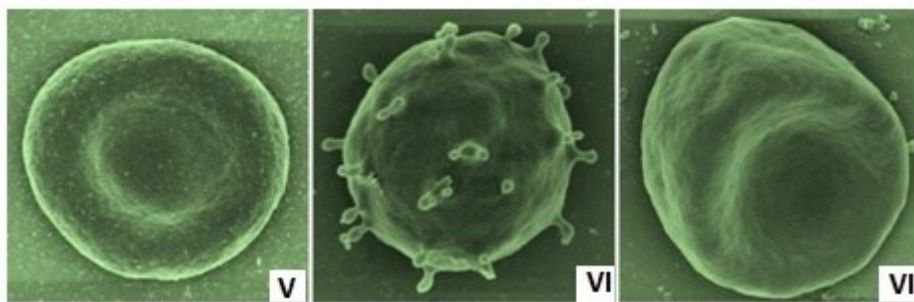


Figura 23 Cambios morfológicos eritrocitarios en la uremia.

V) Eritrocito normal: forma bicóncava discoidal. VI) Eritrocito en forma de esferocito con formación de microvesículas. VII) Eritrocito en forma de estomatocito inducido por stress oxidativo. (69)

F. Manzur Jattina et al. Eriptosis: mecanismos moleculares y su implicación en la enfermedad aterotrombótica. Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Elsevier España

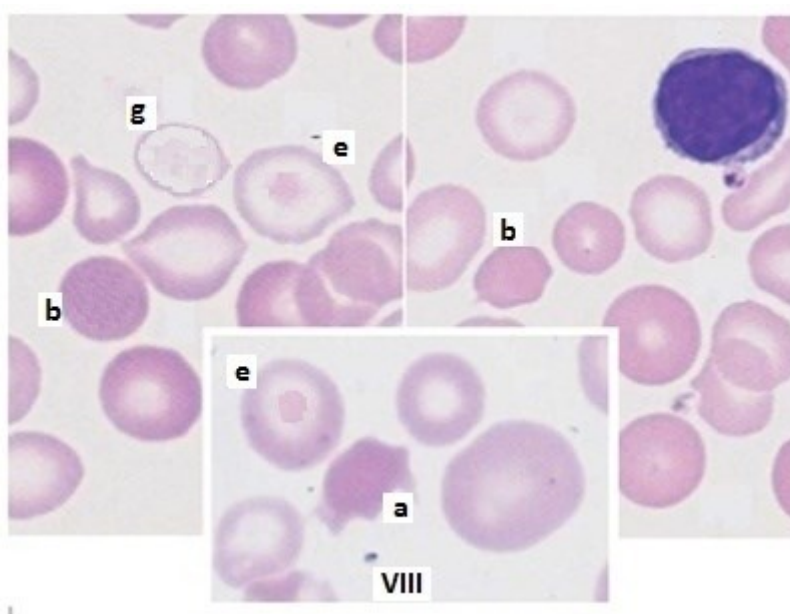


Figura 24 Target cell (e), esferocitos (b), anulocitos (g) o esquistocitos (a) son parte de la morfología típica en el paciente urémico

A. Hoffbrand, J. Pettit, P. Vyas. (2010) Color Atlas Clinical Hematology. Mosby Elsevier

El leucograma suele ser inexpressivo, salvo por la presencia de neutrófilos hipersegmentados (Fig III.f) , de significado incierto, (probablemente coincidiendo con niveles bajos de ácido fólico). Hay reducción en el recuento de plaquetas, pero rara vez hasta valores trombocitopénicos (1). Valores anormales en el recuento de leucocitos y plaquetas no son característicos de la IRC y su aparición amerita la investigación de otros procesos asociados (29).

La presencia de esferocitos y un valor de reticulocitos aumentado evidencia la presencia de hemólisis relacionada, por ejemplo a la diálisis o a la utilización de fármacos con alto potencial oxidativo. El recuento de reticulocitos nos permite evaluar la respuesta medular frente a la anemia. Éste en general es normal o bajo debido a la eritropoyesis hipoproliferativa (48).

El aspirado medular suele ser normal, y la biopsia ósea puede mostrar ocasionalmente un patrón de fibrosis medular secundario al hiperparatiroidismo.

-Parámetros férricos: ferremia, transferrina, IST, TIBC, ferritina y RcSTf

La anemia en el paciente con IRC es una anemia normocítica normocrómica con los valores séricos de ferremia, transferrina y ferritina frecuentemente normales en los primeros estadios de la patología.

En estadios en los que el daño renal es mayor encontramos valores de ferremia disminuidos.

La concentración plasmática de transferrina puede sufrir cambios relacionados fundamentalmente con el estado nutricional y el grado de proteinuria. El porcentaje de saturación de transferrina (IST), usado como medida de disponibilidad del Fe en la eritropoyesis, es un indicador útil para el monitoreo de la concentración de Fe en ausencia de otros desórdenes. En general, en los cuadros de IRC avanzados, encontramos valores de transferrina y TIBC aumentados (refleja el número total de sitios libres en la transferrina que pueden unir Fe) con IST disminuido (67).

La ferritina sérica constituye un método no invasivo para conocer la magnitud de las reservas o depósitos de Fe. La disminución de la ferritina sérica es anterior a las modificaciones características de los otros indicadores bioquímicos (IST, Hb y Hto) por lo que es considerada un parámetro más sensible, aunque es afectada por la inflamación y es un reactante de fase aguda, por lo que sus valores pueden estar normales o aumentados en pacientes en diálisis en quienes puede estar presente una inflamación subclínica (29,67).

El aspirado medular muestra generalmente un patrón de bloqueo del hierro, con una disminución de sideroblastos y hierro macrofágico aumentado (6). Esto queda reflejado en un número normal o disminuido de reticulocitos, en gran proporción hipocrómicos (67).

-Porcentaje de eritrocitos hipocrómicos: en condiciones de normalidad el porcentaje de eritrocitos hipocrómicos es inferior al 2,5%. Este indicador refleja disponibilidad e incorporación del hierro almacenado. Aplicado al caso particular de la anemia de la IRC, se ha considerado que valores de

hipocromía eritrocitaria superiores al 10% son indicativos de ferropenia (68).

-Fracción de reticulocitos inmaduros: es útil para monitorear el tratamiento con Eporh, siendo mas sensible que evaluar solamente el recuento absoluto o porcentual de reticulocitos.

-Hemoglobina reticulocitaria: la CHbr disminuye a los pocos días de comenzada una eritropoyesis deficiente por falta de Fe, debido a que el lapso entre la liberación de los reticulocitos a la circulación y su maduración a eritrocito es de 18 a 36 hs. Por ello, la CHbr provee una medición del estado funcional de la MO casi en tiempo real, en oposición a la HCM y CHCM que identifica a los eritrocitos en circulación formados y hemoglobinizados semanas o meses atrás (68,1). La CHbr es útil también para evaluar respuesta al tratamiento con Fe.

Un valor de CHbr menor a 26 pg representaría una deficiencia de Fe.

-Hepcidina: puede presentar valores bajos indicando deficiencia absoluta de Fe (10 ng/ml – VN 50 ng/ml) aunque en más del 80% de los pacientes con IRC suele presentar valores elevados que se corresponden con un cuadro inflamatorio crónico asociado (déficit funcional de Fe). (22,12)

Los métodos comerciales disponibles se basan en técnicas ELISA. Sus niveles no han mostrado ser clínicamente útiles o superiores a los de Fe en pacientes con IRC. La variabilidad interensayos (algunas técnicas desarrolladas dosan hepcidina²⁵ mientras que otras dosan todas las isoformas, algunas dosan la hepcidina libre mientras que otras la hepcidina ligada a proteínas) lleva a la falta de intervalos de referencia universales (12).

-Receptor soluble de transferina: es resultado de la proteólisis de la proteína intacta en la superficie de casi todas las células de rápida proliferación con requerimientos de Fe, tal como las células eritropoyéticas de la médula ósea y reticulocitos.

El valor de RcSTf es proporcional al número de RcTf expresados en la superficie de estas células y se lo correlaciona con la actividad eritropoyética y la cantidad de Fe disponible para la eritropoyesis.

El análisis de valores disminuídos o aumentados de RcSTf, correlacionados a depósitos férricos adecuados o disminuídos respectivamente, no se cumple en algunos pacientes con IRC avanzada, debido a que los precursores eritropoyéticos sufren cierto grado de inhibición por parte de tóxicas urémicas (67). El RcSTf presenta valores disminuídos, aún con depleción férrica. En ellos, RcSTf carecería de validez.

Sí es de utilidad en aquellos pacientes en los que se desea predecir la respuesta al tratamiento con EPOrh, que tienen un aumento en la concentración de los RcSTf, con una ferritina disminuida o en el límite inferior. Ello indicaría un fallo en la respuesta al tratamiento con EPOrh por una deficiencia férrica.

-LDH: podemos encontrar valores normales o leve a moderadamente aumentados relacionado a cuadros hemolíticos.

-Haptoglobina: en general vemos valores normales o disminuidos no solo por la hemólisis sino por las pérdidas urinarias en caso de proteinuria. Puede llegar a encontrarse valores levemente aumentados por ser una proteína de fase aguda (6).

-PCR: en general se encuentra valores leve a moderadamente aumentados ya que la IRC genera procesos inflamatorios crónicos no infecciosos.

-Vitamina B₁₂ y folatos: el déficit de vitamina B₁₂ es poco frecuente pero no menos importante como causa de macrocitosis en pacientes con IRC. Esta deficiencia afecta aproximadamente al 10% de los pacientes hemodializados.

Con mayor frecuencia se presenta estados carenciales de folatos, sobre todo en períodos posteriores a las terapias de diálisis, ya que es una molécula dializable; como así también por una nutrición inadecuada en pacientes con insuficiencia renal.

Ya que la concentración de folato sérico es muy variable debido a la ingesta reciente y sobre todo a la hemodiálisis (una vez que el folato es incorporado al eritrocito se mantiene dentro a pesar de las variaciones séricas), el dosaje de folato eritrocitario se prefiere al folato sérico, (29) aunque éste podría no reflejar déficit recientes.

-SOMF: es utilizada para descartar pérdidas sanguíneas intestinales en los frecuentes cuadros de gastritis urémica.

-Eritropoyetina: encontramos valores disminuidos de eritropoyetina. Su dosaje no es rutinariamente usado para definir deficiencias de eritropoyetina de otras causas de anemia en pacientes con IRC, aunque su nivel en sangre sí es utilizado para seguimiento de la actividad proliferativa eritropoyética efectiva, juntamente con el recuento absoluto reticulocitario (29).

-Recuento plaquetario: es normal o pueden hallarse trombocitopenias moderadas (80.000 / mm³) La adhesión y agregación plaquetaria son anormales, debido a una disminución cualicuantitativa de GPIb y disminución cualitativa de GPIIb/IIIa respectivamente, como también disminución del contenido de los gránulos densos plaquetarios (ADP, FP4,

serotonina) y liberación disminuída del contenido de los gránulos α (trombospondina y trombomodulina)

Estas anomalías corrigen con la diálisis, aunque con ello surgen factores protrombóticos (aumento de fibrinógeno, FVIII, FvW, PAI)

III.7 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico de anemia secundaria a IRC exige la práctica de un diagnóstico diferencial que permita excluir otras causas de anemia. Varias enfermedades o sus tratamientos pueden causar anemia, de manera que otras potenciales causas de anemia deben ser consideradas (65,29).

- Déficit nutricional
- Anemia dilucional
- Infección-Inflamación crónica
- Supresión medular inducida por drogas o hemólisis inducida por drogas (inmunosupresores, IECA, ARA II): cuando la médula es suprimida por drogas citotóxicas o reacciones tóxicas idiopáticas, el hierro sérico tiende a ser alto y el recuento de reticulocitos bajo.
- En cuadros hemolíticos, el recuento de reticulocitos, bilirrubina y LDH suelen estar elevados, con valores disminuidos de haptoglobina.
- Pérdida crónica de sangre: disminuye el hierro sérico y la ferritina, aunque aumenta la transferrina.
- Desórdenes endócrinos (hipo o hipertiroidismo, fallo testicular o diabetes mellitus) pueden estar asociados con anemia normocítica normocrómica.
- Anemia resultante de la invasión metastásica de la médula ósea por tumores
- Talasemias

III.8 Embarazo e Insuficiencia Renal Crónica

Los embarazos en pacientes en diálisis son poco frecuentes y difíciles de estudiar.

El primer embarazo a término con éxito de una paciente en tratamiento con hemodiálisis fue descrito en 1971 por Confortini et al., la paciente tenía 35 años.

El porcentaje de gestaciones con éxito es cada vez mayor, pero existe un porcentaje de morbilidad materno-fetal muy alto en comparación con la población normal. Hou et al. publicaron datos recogidos de 206

unidades de diálisis norteamericanas concluyendo que el porcentaje de abortos hasta 1990 era del 70%, y menor al 35% en la década 2000-2010. Según registros de la Asociación Europea de Diálisis y Trasplante (EDTA) la incidencia de embarazo era de 0,9% en 1980, considerado un grupo de 1300 mujeres en edad fértil en hemodiálisis crónica.

Según las publicaciones más recientes, la frecuencia de embarazos de mujeres en hemodiálisis está aumentando desde un 1% a un 7%. La mejoría en la eficacia de la diálisis, junto con la corrección de la anemia, debido al uso generalizado de la eritropoyetina, permite en la actualidad una mejora en el estado general de las pacientes.

Actualmente, el pronóstico para la madre es bueno; mejor para las pacientes que comienzan diálisis después de embarazarse que para aquellas que ya estaban recibiendo dicha terapia en el momento de la concepción.

El aumento del tiempo de diálisis prolonga la gestación, por lo que resulta en niños con mayor peso al nacer, mejora las posibilidades de vida y disminuye las complicaciones a largo plazo (32).

Las **complicaciones maternas de pacientes con IRC** incluyen:

- Aborto espontáneo
- Desprendimiento placentario
- Anemia
- Infección
- Ruptura prematura de membranas
- Polihidramnios (diferentes trabajos sugieren que el tratamiento de esta complicación consistiría en aumentar la dosis de diálisis)
- Parto pretérmino
- Descontrol de hipertensión arterial
- Preeclampsia, eclampsia (aproximadamente un 80% de las mujeres en hemodiálisis que quedan embarazadas tienen hipertensión arterial o requieren medicación antihipertensiva en algún momento de su embarazo)
- Hemorragia
- Necesidad de practicar cesárea
- Muerte materna

Las **complicaciones fetales en pacientes con IRC** más frecuentes son:

- Restricción del crecimiento intrauterino
- Sufrimiento fetal agudo y crónico

- Prematuridad
- Dificultad respiratoria del recién nacido
- Derivación a una unidad de cuidados intensivos neonatales
- Muerte en útero o neonatal

La anemia en el embarazo se asocia con aumento en la incidencia de partos pretérmino, lo que resulta en mayor mortalidad infantil.

Para conseguir los niveles de hemoglobina deseados de 10-11 g/dl en mujeres embarazadas con IRC, se debe aumentar las dosis de eritropoyetina entre un 50 y un 100%.

Respecto a la eritropoyetina, su uso durante el embarazo ha demostrado ser seguro, no documentándose incremento de la presión sanguínea ni teratogenicidad.

Durante el embarazo, la madre y el feto necesitan 800-1000 mg de hierro. Los suplementos orales no serían suficientes, por lo que deben administrarse de forma intravenosa, sin que se presenten efectos adversos por ello. Se requieren controles frecuentes tanto de hemoglobina como de ferritina.

La heparina no atraviesa la placenta ni tampoco es teratogénica; ha de usarse para evitar que se coagulen los accesos. Se debe utilizar en todas las pacientes, salvo las que cursan con sangrado activo. La cumarina está contraindicada en estas pacientes.

Las medidas referidas en las diferentes publicaciones para conseguir gestaciones exitosas en estas pacientes incluyen: el abordaje multidisciplinar, aumentar el tiempo de diálisis, mantener bajos niveles de urea prediálisis, intentar prevenir la prematuridad, controlar estrictamente la tensión arterial y los electrolitos, prevenir las infecciones urinarias y una monitorización fetal adecuada.

CAPÍTULO IV

TRATAMIENTO

IV.1 Objetivos del tratamiento

En el paciente con ERC deben buscarse objetivos de control de Hb entre 10 y 12 g/dl en adultos (21).

La concentración esperable recomendada por KDOQI es: ferritina en suero > 200 ng/ml para pacientes renales que se dializan y ferritina > 100 ng/ml para aquellos con IRC que no han llegado aún a la hemodiálisis, y < 500 ng/ml para ambos casos, acompañados de un IST > 20% y < 50%. (21) Los niveles de ferritina sérica por debajo de 30 µg/l son inadecuados para la regeneración de hemoglobina y sugieren un déficit absoluto de hierro (40,29).

En casos de niveles de ferritina aceptables e incluso altos (> 800 µg/ml), con IST < 20%, pueden estar asociados con una sobrecarga de hierro, con un proceso inflamatorio crónico relacionado con un bloqueo retículoendotelial y supresión de la eritropoyesis (40,49).

El estudio CHOIR, realizado en EE.UU, que incluyó 1.432 pacientes en estadios 3-4, analizó la aparición de eventos cardiovasculares, mortalidad y calidad de vida, en dos grupos aleatorizados, con la intención de tratar para mantener un nivel de Hb de 13,5 g/dl o de 11,3 g/dl. Los autores encontraron que la normalización de la Hb se asocia a un incremento del riesgo de eventos cardiovasculares o de otras causas, pero sin mejoría de la calidad de vida entre el grupo que mostraba valores de Hb de 13,5 respecto al que tenía valores próximos a 11,3 g/dl, por lo que recomiendan mantener a los pacientes con niveles de Hb entre 11 y 12 g/dl (49).

IV.2.1 Modificación de hábitos dietarios

Uno de los pilares fundamentales en el tratamiento de la anemia en pacientes renales crónicos consiste en disminuir y prevenir los efectos de las toxinas urémicas (7). Puede lográrselo a través de:

- Modificación de la dieta
- Reducción de la generación de toxinas a nivel intestinal
- Reducción de la absorción intestinal de estas toxinas
- Preservación de la función renal

La alteración de la flora microbiana intestinal está asociada al aumento de los niveles de toxinas urémicas derivadas de ciertas proteínas en la IRC. Así, la microflora intestinal es un futuro blanco de estudio para la prevención en la generación y acumulación de estos productos (7). Se puede influenciar el crecimiento bacteriano y el metabolismo intestinal a

través del uso de probióticos (productos con bifidobacterias), prebióticos (almidón resistente, inulina enriquecida en oligofructosa) y antibióticos.

También puede aumentarse la fibra dietaria y disminuir el contenido de alimentos proteicos ricos en fenilalanina y triptófano, generadores de sulfato de p-cresol y sulfato de indoxilo (18,7). También debe prevenirse la constipación, con reguladores del tránsito intestinal, de manera de reducir el metabolismo de aminoácidos precursores de toxinas urémicas.

Agentes captadores de fosfatos en la luz intestinal o de intercambio de éste por otros iones se utilizan para limitar su acumulación. Con este mismo fin se utiliza el carbón activado, reteniendo en la luz intestinal un gran número de toxinas urémicas y normalizando la función de barrera de la mucosa intestinal (7) o compuestos adsorbentes intestinales (AST-120 KREMEZIN) los que disminuyen los niveles de compuestos urémicos, precursores de potenciales toxinas urémicas (ej. indol) adsorbiendo estas toxinas de la luz intestinal y promoviendo la excreción del metabolito. Así, se llevaría a la reducción del stress oxidativo del riñón, infiltración renal de monocitos/macrófagos, fibrosis, etc (18).

Otra alternativa para la reducción sérica de toxinas urémicas es la regulación de la secreción y absorción de éstas a nivel de túbulo renales. Los cambios en la expresión o función de los canales de transporte (absorción) puede disminuir la toxicidad en las células tubulares renales. Por ejemplo, el probenecid inhibe la incorporación de indol.3.lactato, kinureina y fenilsulfato a nivel de las células tubulares renales, incrementando la viabilidad de éstas (7).

IV.2.2 Suplementación con hierro

El segundo pilar del tratamiento se basa en reponer los depósitos de hierro y mantenerlos. Este es un punto clave, ya que se sabe que pacientes con déficit de hierro requieren dosis más elevadas de eritropoyetina para mantener niveles adecuados de hemoglobina y que la principal causa de respuesta inadecuada a la Epo es el déficit de hierro (48).

Hierro oral

La dosis de hierro elemental recomendada varía entre 2-3 mg/kg/día hasta 6 mg/kg/día, con un máximo de 150-300 mg diarios, dividido en 2-3 dosis. Debe ser administrado 2 horas antes o 1 hora después de quelantes de fósforo que contienen calcio o de comida, con el fin de aumentar la absorción gastrointestinal. No debe ser adicionado a fórmulas lácteas, ni ingerido en conjunto con cereales, legumbres ni taninos (té, chocolate).

Existen distintas formas farmacéuticas de Fe: sales ferrosas en diferentes formas: sulfato, fumarato, gluconato, fosfatos, asociado a carbohidratos.

Hierro intravenoso

La ferroterapia exige adecuar la posología y forma de administración según la naturaleza de la sal férrica indicada. Están disponibles distintas formas: hierrodextran de bajo peso molecular, hierrodextran de alto peso molecular, gluconato férrico sódico, hierrosacarato y otros.

A pesar de que la administración de preparados orales de hierro es segura y de bajo costo, es inadecuada para mantener depósitos normales de hierro en la mayoría de los pacientes en hemodiálisis o diálisis peritoneal (48).

Pacientes que recibieron hierro i.v. presentan niveles de hematocrito y de saturación de transferrina significativamente mayores que aquellos pacientes que reciben tratamiento oral. La dosis de eritropoyetina es significativamente menor en aquellos que reciben tratamiento intravenoso, respecto de los que lo reciben vía oral (48).

Entre los factores que contribuyen a la mala respuesta al tratamiento oral se encuentran: intolerancia gastrointestinal (constipación, náuseas), una menor absorción intestinal de hierro (48,49) y baja adherencia al tratamiento, la que es favorecida por el hecho de que los suplementos orales deben ser administrados alejados de medicamentos que estos pacientes reciben de forma rutinaria, tales como quelantes de fósforo y antiácidos (48).

Todas las formas de administración parenteral se han asociado con eventos adversos de tipo inmunológico o bien por liberación a la circulación de hierro bioactivo parcialmente unido, lo que determina stress oxidativo e hipotensión (reacciones de hierro libre o lábil). Las reacciones anafilácticas se observan con mayor frecuencia al utilizar preparaciones con hierrodextran, mientras que las preparaciones sin dextran (gluconato, sacarato) se asocian con reacciones mediadas por liberación de hierro libre a la circulación (48).

La ferroterapia no debe ser por defecto ni tampoco por exceso. Ajustar la posología del hierro requiere la monitorización de la ferritina en función de la respuesta eritropoyética. La administración de hierro y, en particular, su sobredosificación se han asociado a manifestaciones de sobresaturación de la transferrina, shock y sepsis, así como acumulación en el corazón, el hígado, el páncreas y los músculos, además de cefalalgia, algias musculares y otras expresiones mórbidas menores (68).

El hierro es esencial para el crecimiento y la proliferación de la mayoría de los patógenos incluyendo muchas bacterias, virus, hongos y parásitos. Y también ejerce efectos sutiles sobre la respuesta inmune. Si bien la evidencia teórica sugiere que la administración de hierro puede empeorar una infección existente, la evidencia experimental no puede proporcionar datos claros respecto a si los pacientes con IRC están en riesgo creciente a infección cuando su anemia se trata con hierro intravenoso. Por ello, la KDOQI sugiere no se administre hierro i.v. cuando el paciente tiene un cuadro infeccioso activo (29).

IV.2.3 Transfusión sanguínea

La transfusión es una opción en el tratamiento de la anemia en la IRC. Esta opción depende del costo-beneficio para el paciente, los cuales son variables.

En el caso de pacientes con IRC potenciales trasplantados, debe evitarse las transfusiones, cuando sea posible, para evitar al mínimo la alosensibilización.

Las ventajas de la transfusión de glóbulos rojos pueden compensar los riesgos en aquellos pacientes en los que la terapia con AEE es ineficaz (hemoglobinopatías, fallo de la medula ósea, resistencia a los AEE) aunque debe monitorizarse fielmente los riesgos de sobrecarga férrica para evitar la hemosiderosis (29).

Se sugiere que la decisión de transfusión en pacientes con IRC y anemia no aguda no debe estar basado en un valor umbral de Hb, sino que debe estar determinado por la ocurrencia de los síntomas causados por la anemia (29).

IV.2.4 Eritropoyetina

En los últimos años el tratamiento de la anemia en esta patología ha mejorado sustancialmente debido al uso regular de agentes estimuladores de eritropoyesis (48).

Originalmente identificada en la década de 1950 por Erslev et al, el hallazgo de la Epo fue seguido por la identificación y clonación del gen correspondiente en el brazo largo del cromosoma 7, en la región q11.q22 del genoma, el cual posee 5 exones y 4 intrones y codifica una proteína de 165 aminoácidos. Esto permitió la síntesis de la hormona recombinante en la década de 1970, siendo usada por primera vez en la práctica clínica en el año 1986 en pacientes anémicos por IRC, y posteriormente para otras varias patologías hematológicas (48).

La eritropoyetina recombinante humana (Eporh) es idéntica a la Epo humana natural. Posee la misma secuencia y composición de aminoácidos, la misma estructura de carbohidratos y oligosacáridos, idéntica farmacocinética, actividad biológica y actividad específica.

Luego de varios intentos, se incorporó el gen de la EPO humana al aparato genético de células ováricas de un hámster de origen chino. Estas células cultivadas "in vitro", producen en el medio de cultivo abundantes cantidades de la hormona que posteriormente se purifican por cromatografía secuencial. Este procedimiento ha permitido la provisión de grandes cantidades de EPO para su uso clínico terapéutico. Esto supuso un cambio radical en el tratamiento de la anemia de la insuficiencia renal. Aunque el déficit de eritropoyetina es sólo una de las causas de la anemia de la insuficiencia renal, la reposición de la eritropoyetina cambiaría por completo el panorama del tratamiento de la anemia. Antes, dicho tratamiento se basaba en los andrógenos, de escasa eficacia y con efectos adversos, en el hierro, y en el uso de transfusiones de sangre, con sus riesgos añadidos, en particular los de infección y de sensibilización frente a antígenos de histocompatibilidad.

El uso con fines terapéuticos o investigativos de la Eporh requiere el manejo de cantidades perfectamente conocidas. Para ello se creó el International Reference Standard B. Una Unidad de Epo corresponde a la actividad eritropoyética contenida en 1.48 mg del mencionado Standard Internacional. Es una preparación de Epo urinaria humana, disponible en ampollas de 10 U en la División of Biological Standards, National Institute for Medical Research, Holly Hill, Hampstead, London NW3 6RB, United Kingdom (Inglaterra). También se ha estimado que 1U produce una estimulación de la eritropoyesis similar a la que se observa con la administración de 5 μ mol de cobalto. Es una unidad arbitraria, como otras muchas unidades de medida, que sin embargo ha sido de gran utilidad para la determinación y el manejo de la actividad eritropoyética de la hormona. La unidad de Epo, es aceptada internacionalmente en estudios biológicos y para estimaciones para el uso clínico.

IV.2.4.1. Complicaciones del tratamiento con Eporh

La **Hipertensión Arterial (HTA)** es una de las más comunes, en niños y adultos. Se han reportado cifras cercanas al 30% de HTA en tratamientos con esta hormona en pediatría. Se ha recomendado mantener niveles target de hemoglobina/hematocrito inferiores a las recomendaciones KDOQI, sugiriendo una cifra de 10-11 g/dl y 30-35% para cada uno

respectivamente. Se cree que este efecto depende de un aumento en el volumen sanguíneo, en la viscosidad de la sangre, cambios secundarios en la síntesis de óxido nítrico, aumento del calcio intracelular, aumento en la producción de catecolaminas, y a un efecto vasopresor directo dependiente de la hormona (48,23).

Resulta especialmente interesante constatar que el aumento del hematocrito después de transfusiones sanguíneas no se asocia a HTA, como tampoco la elevación de la hemoglobina en respuesta al hierro endovenoso existiendo trabajos de investigación sobre HTA asociada al tratamiento con Epo en pacientes con depósitos insuficientes de hierro y previo al aumento de la hemoglobina (48).

También se reportan **episodios cardiovasculares graves y convulsiones** en aquellos casos en que el paciente presenta una velocidad rápida de aumento de la hemoglobina (> 1 o 2 g/dl/mes)(23).

Otros efectos adversos relacionados con el uso de Epo recombinante humana son: **cuadro pseudogripal autolimitado, náuseas, edema, eritema cutáneo, hipercalcemia, hiperkalemia, hiperfosfatemia, encefalopatía hipertensiva** (obliga a la supresión temporal de la Eporh), **trombosis del circuito extracorpóreo, trombosis de la fístula arteriovenosa, déficit de hierro, trombocitosis, cefalea, dolor en el sitio de inyección, síntomas tipo influenza y aumento del riesgo de progresión tumoral o de recurrencia** en pacientes con cáncer de mama, pulmón (no microcítico), cabeza y cuello, tumores linfáticos y cáncer cervical, por lo que no se recomienda el uso de EPO en pacientes que reciben tratamiento mielodepresor (48,23).

Otra de las complicaciones del tratamiento con Eporh es la **aplasia pura de células rojas (APCR) mediada por anticuerpos neutralizantes anti-eritropoyetina**. El tratamiento de la anemia en la insuficiencia renal crónica con Epo recombinante humana puede desencadenar la formación de Ac IgG no solo contra el producto, sino también contra la eritropoyetina endógena.

Puede aparecer tras meses o años de tratamiento con AEE. Los pacientes desarrollan de forma repentina una pérdida de eficacia (disminución de la Hb en $1-2$ g/dl al mes), con aumento en la necesidad de transfusiones. En estos casos se debe determinar el recuento de reticulocitos y descartar otras posibles causas de falta de respuesta a la Epo. Ante la sospecha de APCR mediada por anticuerpos anti-eritropoyetina, se debe suspender el tratamiento con la Epo exógena, estando posteriormente contraindicado su uso o el de cualquiera de ellas (41,1).

Entre los años 1998-2002, el número de casos de APCR tras tratamiento con epoetina alfa estabilizada con polisorbato (Eprex®) o estabilizada con albumina sérica humana aumentó bruscamente con una mayor incidencia tras la administración subcutánea (s.c.) respecto a la intravenosa (IV). Esta situación motivó contraindicar la vía s.c. de epoetina alfa en pacientes con fallo renal crónico. Posteriormente y tras una reevaluación de la situación, el uso de epoetina alfa por vía s.c. en pacientes con insuficiencia renal con difícil acceso vascular fue autorizado.

En un número aún menor, se generó situaciones similares frente a la administración de epoetina beta. En cualquier caso y con el uso de cualquiera de estos agentes, ante la sospecha de APCR mediada por anticuerpos anti-Epo, el tratamiento debe suspenderse de forma inmediata (4,6,41).

El tratamiento con drogas inmunosupresoras causa lenta disminución de la producción del anticuerpo, pero los pacientes quedan impedidos de modo definitivo de tratarse con Epo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIÓN

Javier A. Nardelli

Especialidad en Bioquímica Clínica: Hematología
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

El conocimiento y manejo de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) se ha convertido en un pilar del tratamiento de la enfermedad renal; el reconocimiento de los beneficios que su control brinda en la sobrevida y en la calidad de vida de los pacientes, así como los cambios en su terapéutica durante los últimos años centrados en su óptima corrección, motivan la actualización permanente.

El parénquima renal representa en la especie humana el 1% de la masa corporal total, recibe aproximadamente un 20% del gasto cardíaco y consume casi el 8% del oxígeno utilizado en reposo, lo que da una idea de su potencial metabólico, participando en múltiples procesos para mantener el equilibrio interno. Uno de ellos es la síntesis de eritropoyetina por parte de las células peritubulares intersticiales. Dicha hormona actúa induciendo la diferenciación y maduración de precursores de la serie roja en la médula ósea. Por ello no es extraño que la insuficiencia renal se acompañe más o menos tempranamente de anemia.

Aún cuando la causa primaria de la anemia durante la progresión de la enfermedad renal crónica es el fracaso de la función endócrina del riñón, a través del déficit de eritropoyetina endógena por menor masa renal funcionante, contribuye en gran medida el déficit de hierro; considerando tanto un “déficit absoluto” caracterizado por la reducción de la absorción gastrointestinal de hierro, depleción de las reservas corporales de hierro debido principalmente a una nutrición inadecuada, pérdida crónica de sangre, (frecuentes extracciones de sangre para estudios de laboratorio, sangrado gastrointestinal oculto, pérdidas asociadas al procedimiento de diálisis, etc.) y un “déficit funcional” que se caracteriza por un depósito de hierro normal e inadecuada disponibilidad del mismo para satisfacer las demandas de la eritropoyesis. Este disturbio puede verse asociado a procesos inflamatorios, por acción de citoquinas que aumentan la captación de hierro por los macrófagos del sistema reticuloendotelial disminuyendo su disponibilidad.

Medidas terapéuticas como la diálisis o la medicación generan efectos secundarios adversos indeseados al hematíe, contribuyendo al cuadro anémico del paciente con IRC. Estas alteraciones, tanto químicas, mecánicas o térmicas, como deshidratación, recalentamiento o acumulación de cationes metálicos como el Al, potenciadas por el stress energético, oxidativo y osmótico al que están sometidos en los organismos urémicos llevan a modificaciones tanto en estructuras de membrana como citoplasmáticas.

Contribuyentes de estos efectos son las toxinas urémicas de retención, generadoras de daño celular con numerosos puntos de acción, desde estructuras propias de los eritrocitos, como así también del entorno en el que se encuentre, como médula ósea o la pared de los vasos por los que circulan.

El desequilibrio hormonal, como ocurre con la PTH, afecta directamente a la formación de eritrocitos a nivel medular, como así también de manera indirecta, modificando la composición hidroelectrolítica del medio que los rodea o generando mielofibrosis y obliterando la médula ósea.

En los últimos años, el tratamiento de la anemia en esta patología ha mejorado sustancialmente debido al uso regular de agentes estimuladores de eritropoyesis y suplementos de hierro y sin restar importancia, la modificación de los hábitos dietarios. Entre los beneficios de un tratamiento adecuado de la anemia destacan una mejoría en la calidad de vida de los pacientes, efectos cardiovasculares y mejoría de la capacidad funcional y cognitiva y disminución del número de transfusiones de glóbulos rojos. En pediatría se ha comprobado igualmente la disminución del efecto de retraso del crecimiento que presentan estos pacientes.

El estricto control de la ferroterapia es muy importante. Ajustar la posología del hierro administrado requiere la monitorización de recuento eritrocitario, hemoglobina, índices hematimétricos, ferremia, transferrina y porcentaje de saturación y ferritina en función de la respuesta eritropoyética. La administración de hierro, y en particular, su sobredosificación se ha asociado a manifestaciones de sobresaturación, shock y sepsis, así como su depósito en tejido cardíaco, hepático, pancreático o muscular; además de causar cefalalgia, algias musculares y otras expresiones mórbidas menores.

Desde la introducción de la eritropoyetina recombinante humana, los agentes estimuladores de la eritropoyesis se han convertido en la piedra angular del tratamiento de la anemia de la enfermedad renal crónica. Frente a esta nueva conducta de tratamiento, cabe una mención especial y no menos importante a la resistencia o respuesta inadecuada a determinados AEE, como así también los casos de eritroblastopenia asociada con la aparición de anticuerpos dirigidos contra ciertas formas bioequivalentes a la eritropoyetina.

BIBLIOGRAFIA

- 1) R. Failace (2011) **Hemograma. Manual de interpretación.** 5° edición. Editorial Médica Panamericana
- 2) M. Wick, W. Pinggera, P. Lehmann (2011) **Clinical Aspects and Laboratory, Iron Metabolism, Anemias. Concepts in the anemias of malignancies and renal and rheumatoid diseases.** 6° Edition. Springer Wien New York
- 3) A. Hoffbrand, J. Pettit, P. Vyas. (2010) **Color Atlas Clinical Hematology.** Mosby Elsevier
- 4) R. Hoffman, E. Benz Jr, S. Shattil, B. Furie, L. Silberstein, P. McGlave, H. Heslop (2009) **Hematology. Basic Principles and Practice.** Churchill Livingstone. Elsevier 5° Edición
- 5) M. Freund. (2008) **Hematología. Guía Práctica para el diagnóstico.** 11° edición. Editorial Médica Panamericana
- 6) J. Sans Sabrafen, C. Besses Raebel, J. L. Vives Corrons (2007) **Hematología Clínica.** Elsevier 5° Edición
- 7) G. Glorieux and J. Tattersall (2015) **Uraemic toxins and new methods to control their accumulation: game changers for the concept of dialysis adequacy.** Clinical Kidney Journal Advance 1–1
- 8) G. N. Masoud, W. Li (2015) **HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy.** Acta Pharmaceutica Sinica B. Elsevier 5(5):478-389
- 9) M. J. Koury and V. H. Haase (2015) **Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy.** NATURE REVIEWS. NEPHROLOGY

- 10) E. Lang and F. Lang (2015) .**Triggers, inhibitors, mechanisms, and significance of Eryptosis: The Suicidal Erythrocyte Death**. Hindawi Publishing Corporation. BioMed Research International. Volume 2015, Article ID 513518
- 11) F. Manzur Jattina, N. Álvarez Ortega, C. Moneriz Pretell, H. Corrales Santander, K. Cantillo García (2015). **Eriptosis: mecanismos moleculares y su implicación en la enfermedad aterotrombótica**. Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Publicado por Elsevier España
- 12) N.C. van der Weerd, M.P.C. Grooteman, M.J. Nubé, P.M. ter Wee, D.W. Swinkels, C.A.J.M. Gaillard (2015) . **Hepcidin in chronic kidney disease: not an anaemia management tool, but promising as a cardiovascular biomarker**. The Netherlands Journal of Medicine. Vol 73, Num 3
- 13) M. B. Rodríguez y Rodríguez, L. J. Castro D'Franchis, A. E. Reyes Jiménez, C. A. López Urtiz. (2015) **Anemia e inflamación con la administración de estimulantes de la eritropoyesis y su resistencia en hemodiálisis**. Medicina Interna de México Vol 31 Num 2 155-163.
- 14) E. Contreras , J. de la Rubia , J. del Rio Garma, M. Diaz Ricart, J. M. Garcia Gala, M. Lozano.(2015) **Guía diagnostica y terapéutica de las microangiopatías trombóticas del Grupo Español de Aféresis**. Medicina Clínica ELSEVIER ESPAÑA ;144(7):331.e1–331.e13
- 15) G. Rishi, D. F. Wallace and V. N. Subramaniam (2015). **Hepcidin: regulation of the master iron regulator**. Bioscience Reports. 35/art:e00192
- 16) R. Inagi, Y. Ishimoto, M. Nangaku (2014). **Proteostasis in endoplasmic reticulum. New mechanisms in kidney disease**. Nature Reviews Nephrology 10, 369–378
- 17) A. Cases Amenos, A. Martinez Castelao, J. Fort Ros, J. Bonal Bastons, M. Ruiz, M. Vallés Prats, E. Coll Piera, J. Galcerán Gui, (2014). **“Prevalencia de anemia y su manejo clínico en la enfermedad renal crónica estadios 3-5 no en diálisis en Cataluña: Estudio Micenas I”** Revista NEFROLOGÍA. Órgano Oficial Sociedad Española de Nefrología. (34)2 189-198

- 18) B. Lisowska Myjak (2014) **Uremic Toxins and Their Effects on Multiple Organ Systems**. Nephron Clinical Practice 128:303–311
- 19) J. Voelkl, K. Alzoubi, A. K. Mamar, M. Siyabeldin, E. Ahmed, M. Abed, F. Lang. (2014) **Stimulation of Suicidal Erythrocyte Death by Increased Extracellular Phosphate Concentrations**. Kidney and Blood Pressure Research 38:42-51
- 20) M. Gorostidi, R. Santamaría, R. Alcázar, G. Fernández Fresnedo, J. M. Galcerán, M. Goicoechea, A. Oliveras, J. Portolés, E. Rubio, J. Segura, P. Aranda, Á. L.M. de Francisco, M. Dolores del Pino, F. Fernández Vega, J. L. Górriz, J. Luño, R. Marín, I. Martínez, A. Martínez Castela, L. M. Orte, C. Quereda, J. C. Rodríguez Pérez, M. Rodríguez, L. M. Ruilope (2014) **Documento de la Sociedad Española de Nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica**. Revista Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. 34(3):302-16
- 21) A. Martínez Castela, J. L. Górriz, J. Bover, J. Segura de la Morena, J. Cebollada, J. Escalada, E. Esmatjes, L. Fácila, J. Gamarra, S. Gràcia, J. Hernánd Moreno, J. L. Llisterri Caro, P. Mazón, R. Montañés, F. Morales Olivas, M. Muñoz Torres, P. de Pablos Velasco, A. De Santiago, M. Sánchez Celaya, C. Suárez, S. Tranche. (2014) **Documento de consenso para la detección y el manejo de la Enfermedad Renal Crónica**. Revista Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. 34(2):243-62
- 22) L. Mercadel, M. Metzger, J. P. Haymann, E. Thervet, J. J Boffa, M. Flamant, F. Vrtovnik, P. Houillier, M. Froissart and B. Stengel. (2014) **The Relation of Hepcidin to Iron Disorders, Inflammation and Hemoglobin in Chronic Kidney Disease**. Plos One. University Medical Center Utrecht, Netherlands. 9(6): e99781
- 23) G.P. Rodgers, N.S. Young (2014) **Manual de Hematología Clínica Bethesda**. 3º edición WOLTERS KLUWER HEALTH
- 24) D. Arroyo, N. Panizo, S. Abad, A. Vega, A. Pérez de José, J. M. López-Gómez. (2014) **Efecto en el control del fósforo sérico tras la sustitución**

de hidróxido de aluminio por acetato cálcico/carbonato magnésico en pacientes en hemodiálisis. Revista Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. 34(2):199-204

25) M. Siyabeldin, E Ahmed, M. Abed, J. Voelkl and F. Lang (2013) **Triggering of suicidal erythrocyte death by uremic toxin indoxyl sulfate.** BMC Nephrology 14:244

26) T. Tanaka, J. Yamaguchi, Y. Higashijima, and M. Nangaku¹ (2013) **Indoxyl sulfate signals for rapid mRNA stabilization of Cbp/p300-interacting transactivator with Glu/ Asp-rich carboxy-terminal domain 2 (CITED2) and suppresses the expression of hypoxia-inducible genes in experimental CKD and uremia.** The FASEB Journal • Research Communication Vol 27

27) E. J. Armstrong, J. L. Granick, S. I. Simon, (2013) **A missing link? Monocyte activation by uremic toxins in cardiorenal syndrome.** Journal of Leukocyte Biology. Vol. 93

28) J. Voelkl, K. Alzoubi, A. K. Mamar, M. Siyabeldin, E. Ahmed, M. Abed F. Lang (2013) **Stimulation of Suicidal Erythrocyte Death by Increased Extracellular Phosphate Concentrations.** Kidney and Blood Pressure Research. 38:42 51

29) G. Eknoyan, MD N. Lameire, MD PhD Founding KDIGO Co-Chairs. National Kidney Foundation. (2012) **“KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease”** Vol 2 Issue 4

30) Ú. Verdalles Guzmán. (2012) **Anemia refractaria en paciente en hemodiálisis.** Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. 3(5):58-9

31) H. Marco Rusiñol, J. Martínez García, E. Martínez Camps. (2012) **Evolución del tratamiento de la anemia: 29 años en hemodiálisis.** Revista Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. Sup 3(5):48-51

- 32) K. R. Furaz Czerpak, G. Fernández Juárez, M. Á. Moreno de la Higuera, E. Corchete Prats, A. Puente García, R. Martín Hernández. (2012) **Embarazo en mujeres en diálisis crónica: revisión 2012**. Revista Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. 32(3):287-94
- 33) F. Lang, E. Lang, M. Föller (2012) **Physiology and Pathophysiology of Eryptosis**. Transfusion Medicine and Hemotherapy. 39:308–314
- 34) A. Jara (2012). **Calcificaciones vasculares en pacientes con Insuficiencia Renal Crónica**. Revista Médica Clínica CONDES - Vol 23 Num(6) 715-723
- 35) M. Molina, Á. M. Sevillano, L. E. Ramos Estévez (2012) **Anemia en paciente con enfermedad renal crónica: «no todo es insuficiencia renal»**. Nefrología Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología Sup Ext 2012;3(5):8-13
- 36) F. J. García López (2011) **La eritropoyetina recombinante humana en la enfermedad renal crónica: lecciones que aprender**. Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología ;2(4):7-15
- 37) C. Chiang,, T. Tanaka, R. Inagi, T. Fujita¹ and M. Nangaku (2011) **Indoxyl sulfate, a representative uremic toxin, suppresses erythropoietin production in a HIF-dependent manner**. Laboratory Investigation Vol 91
- 38) P. Wagner Grau. (2011) **El factor HIF-1 inducido por la hipoxia y la sensibilidad al oxígeno. Rol del hierro intracelular**. Acta Médica Peruana 28(2) 2011 .
- 39) V. Herlax, R. Vazquez, S. Mate, L. Bakás (2011) **Eriptosis, la muerte suicida de eritrocitos: mecanismo y enfermedades asociadas**. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana; 45 (2): 287-96
- 40) Guías S.E.N. GUÍAS DE CENTROS DE HEMODIÁLISIS . Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. NEFROLOGÍA (2006)
- 41) Cabrera García L., Ruiz Antorán B. Sancho López A. Eritropoyetina: revisión de sus indicaciones (2009)

- 42) F. C. Barreto, D. V. Barreto, S. Liabeuf, T. B. Drueke and Z. A. Massy. (2009) **Effects of Uremic Toxins on Vascular and Bone Remodeling. Seminars in Dialysis.** Wiley Periodicals—Vol 22, num 4 pp. 433–437
- 43) A. Fraga, R. Ribeiro y R. Medeiros.(2009) **Hipoxia tumoral. Papel del factor inducible por hipoxia.** Actas Urológicas Españolas. Elsevier Doyma 33(9):941-951
- 44) L.M. Ortega, G. Contreras (2009) **El impacto clínico de los efectos fisiológicos de la eritropoyetina y de los agentes estimulantes de la eritropoyetina en la incidencia de malignidad, trombosis e hipertensión: más allá de la anemia.** Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología;29(4):288-294.
- 45) K. Lisy and D.J. Peet. (2008) **Turn me on: regulating HIF transcriptional activity.** Cell Death and Differentiation. 15, 642–649
- 46) P. E. Sobrino Pérez, G. Barril Cuadrado, C. del Rey Román y J. A. Sánchez Tomero. (2008). **Monitorización de la calidad del agua tratada «on line» y del líquido de diálisis (LD).** Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología; 28 (5) 493-504
- 47) R. Vanholder, U. Baurmeister, P. Brunet, G. Cohen, G. Glorieux, J. Jankowski for the European Uremic Toxin Work Group. (2008) **A Bench to Bedside View of Uremic Toxins.** Journal American Society Nephrology. 19: 863–870.
- 48) M. Cuevas, P. Rosati, F. Cano. (2008) **Tratamiento de la anemia con eritropoietina y hierro en Enfermedad Renal Crónica.** Revista Chilena de Pediatría. 79 (2): 131-145
- 49) J. M. López Gómez. (2008) **Manejo de la anemia en la enfermedad renal crónica.** Guías S.E.N. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. Supl. 3, 63-66
- 50) P. E. Sobrino Pérez, G. Barril Cuadrado, C. del Rey Román y J. A. Sánchez Tomero. **Monitorización de la calidad del agua tratada «on line»**

y del líquido de diálisis (LD) Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología; 28 (5) 493-504

51) J. Montenegro (2008) **Quelantes del fósforo (P) en diálisis: eficacia y coste. Soluciones de diálisis peritoneal.** Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. Supl. 5, 53-57

52) R. Almuna, D. Quezada, K. Zeldis (2007) **Hemodiálisis y embarazo: experiencia clínica en 5 pacientes.** Revista Obstetrica Ginecológica - Hosp. Santiago Oriente Dr. Luis Tisné Brousse. VOL 2 (2): 109-113

53) J. Malyszko, J. S. Malyszko, K Pawlak, M. Mysliwiec. (2006) **"Hepcidin, iron status and renal function in chronic renal failure, kidney transplantation and hemodialysis"**. American Journal of Hematology. 81:832-837

54) **Guías SEN. Guías de Centros de Hemodiálisis.** (2006) Publicación Oficial de la Sociedad Española de Nefrología. Vol. 26 suplem 8

55) E. A. Ribes (2004) **Fisiopatología de la insuficiencia renal crónica.** Anales de Cirugía Cardíaca y Vascular. 10(1):8-76

56) S.S. Hong, H. Lee and K.W. Kim (2004). **HIF-1 α : a Valid Therapeutic Target for Tumor Therapy.** Cancer Research and Treatment. 36(6):343-353

57) A. Cases, E. Bragulat, M. Serradell, M. Vera, A. de la Sierra y G. Escolar (2003) **Disfunción endotelial en la insuficiencia renal crónica.** NEFROLOGÍA. Vol. XXIII. Suplemento 4.

58) I. Gutiérrez Vázquez, A. Domínguez Maza, J. J. Acevedo Mariles, (2003) **Fisiopatología del síndrome urémico.** Revista Hosp Gral Dr. M. Gea González Vol 6, Num. 1 (2003)

59) R. Vanholder, R. de Smet, G. Glorieux, A. Argiles, U. Baurmeister, P. Brunet, W. Clark, G. Cohen, P. P. de Deyn, R. Deppisch, B. Descamps Latscha, T. Henle, A. Jorres, H. Dieter Lemke, Ziad A. Massy, J. Passlick Deetjen, M. Rodriguez, B. Stegmayr, P. Stenvinkel, C. Tetta, C. Wanner, and W. Zidek, for the european uremic toxin work group (EUTOX) (2003)

Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. Kidney international, vol. 63 (2003), pp. 1934–1943

60) M. Albalade, E. Gruss, J. Hernández y C. Caramelo (2003) **Hipofosforemia en unidades de diálisis crónica.** NEFROLOGÍA. Vol. XXIII. Núm 3.

61) W. Douthat, J. Arteaga (2001) **Nefrología. Diálisis y Transplante.** 1º edición Edit Eudecor

62) Harald Thelml, Heinz Diem, Torsten Haferlach, (2004) **Color Atlas of Hematology Practical Microscopic and Clinical Diagnosis.** Thieme Stuttgart · New York

63) G. Chinnapu Reddy, R. Devaki, P. Rao (2013) **Iron indices in patients with functional anemia in Chronic Kidney Disease.** The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

64) N. Padullés Zamora, D. Comas Sugrañes, M. Pineda Yuste, R. Jódar Masanés, Alberto Martínez Castelao. **Utilización de eritropoyetina beta pegilada en enfermedad renal crónica en estadio 3, 4 o 5 no-D** Nefrologia 2012;32(2):221-7

65) K. Kaushansky, M. Lichtman, E. Beutler, T. Kipps, U. Seligson, J. **WILLIAMS HEMATOLOGY** Eighth Edition

66) J. Vives Corrons, J. Aguilar Bascompte. (2006) **Manual de Técnicas de Laboratorio.** 3º edición. Elsevier Masson.

67) M, Wick W. Pinggera P. Lehmann(2011) **Clinical Aspects and Laboratory Iron Metabolism, Anemias.** Concepts in the anemias of malignancies and renal and rheumatoid diseases. 6º Edition. SpringerWien New York

68) J.M. Mauri, J. Bustamante, J. Cebollada, S. Cerezo, J.A. Gutiérrez-Colón, A. Martínez-Castelao, J.M. Monfà, J. Ocharán, J.A. Oliver, R. Romero **Eritropoyesis en la insuficiencia renal crónica**

69) F. Manzur-Jattina, N. Álvarez-Ortega, C. Moneriz-Pretell, H. Corrales-Santandera, K. Cantillo-García (2015) **Eriptosis: mecanismos moleculares y su implicación en la enfermedad aterotrombótica**. Revista Colombiana de Cardiología- ELSEVIER

70) F. Dignat, G. Boulanger (2011). **The many faces of endothelial microparticles**. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. Journal of the American Heart Association. 2011;31:27-33